

ПОСТЕРЫ

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|-----|
| ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ | 242 |
| КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК (ХИРУРГИЯ)..... | 258 |
| МЕЛАНОМА | 262 |
| ДЕТСКАЯ ОНКОЛОГИЯ..... | 271 |
| ОНКОУРОЛОГИЯ..... | 272 |
| ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ | 275 |
| ОПУХОЛИ ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ХИРУРГИЯ)... | 284 |
| РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ | 289 |
| ОПУХОЛИ ГОЛОВЫ И ШЕИ | 299 |
| РАК ЛЕГКОГО (ХИРУРГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ)..... | 306 |
| МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ..... | 311 |
| ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ..... | 342 |
| ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ | 365 |

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

Роль субпопуляций CD34+ клеток в восстановлении кроветворения у взрослых онкологических больных при аутологичной трансплантации периферических стволовых кроветворных клеток

Гривцова Л. Ю., Тулицын Н. Н.

Место работы: лаборатория иммунологии гемопоэза ФГБНУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»

e-mail: grivtsova@mail.ru

Цель. Оценка прогностической роли различных субпопуляций периферических CD34+ клеток в отношении восстановления кроветворения при высокодозной химиотерапии и аутологичной трансплантации периферических стволовых кроветворных клеток (СКК) у онкогематологических больных взрослого возраста.

Материалы и методы. Оценен эффект мобилизации стволовых кроветворных клеток и их субпопуляций у 155 онкогематологических больных (лимфома Ходжкина (ЛХ)– 58 человек, неходжкинские лимфомы (НХЛ) высокой ст. злокачественности (диффузная В-крупноклеточная, Беркитт)– 57 человек, множественная миелома (ММ)– 40 человек). Высокодозная химиотерапия с поддержкой кроветворения периферическими стволовыми клетками проведена 60 больным. Схемы высокодозной консолидации включали платина+вепезид (4 больных), BEAM (35 больных), ретуксимаб-BEAM (2 больных), по одному случаю VAD и CVD, ICE (3 больных) и у 16 больных использован алкеран 200. Периферические стволовые кроветворные клетки получали в ходе процедуры лейкофереза, на фоне стимуляции кроветворения г-КСФ в сочетании с химиотерапией.

Предлеченность больных до мобилизации СКК в среднем составила 3 курса (2–22) включая мобилизационный. Средний возраст больных составил 33,7 (медиана 32 года, разброс 16–64 года). Количественная оценка стволовых кроветворных клеток и их субпопуляций в трансплантируемой ткани (лейкаферезный продукт, ЛП) выполнена иммунологически (трехцветная проточная цитометрия) с использованием прямых конъюгатов моноклональных антител к антигену стволовых клеток CD34 и маркерам, ассоциированным с различными субпопуляциями СКК (ранние – CD90, CD45, HLA-DR, CD38, линейно-коммитированные: миелоидные – CD117, CD13, CD33, CD71, мегакариоцитарные – CD61, лимфоидные – CD10, CD19, CD7, CD2, CD56, CD57).

Результаты. Наиболее выраженная пропорция СКК (% CD34+ лейкоцитов) в ЛП выявлялась у больных ММ во все дни проведения лейкоферезов ($p < 0,01$). В зависимости от нозологической формы заболевания получены различия в субпопуляционном составе CD34+ клеток. СКК больных множественной миеломой характеризовались более выраженной пропорцией В-линейных предшественников CD19+ в сравнении с ЛХ ($p = 0,019$) и НХЛ ($p = 0,012$). Более выраженным у больных ММ, в сравнении с группой НХЛ, было количество CD34+HLA-DR- ($p = 0,036$), а число CD34+CD38- СКК было напротив достоверно более низким ($p = 0,011$). Наиболее низким из всей группы больных ММ было количество CD34+CD45neg клеток, что достоверно отличало группу ММ от больных группы ЛХ ($p = 0,01$). Наиболее высоким количество CD45neg СКК и субпопуляций CD34+CD45- и CD34+CD45low было в группе больных ЛХ. Группу ЛХ от НХЛ достоверно отличала более выраженная пропорция как CD34+CD45low клеток среди СКК первого дня ЛФ ($p = 0,0016$) и выраженное количество CD34+CD45- клеток среди СКК первого дня ЛФ ($p = 0,023$). Достоверно взаимосвя-

занным с суммарной трансплантируемой дозой СКК (количество CD34+ клеток) оказались субпопуляции CD34+CD117+ ($p = 0,017$, прямая зависимость), CD34+CD33+ ($p = 0,047$, обратная зависимость). Образцы с более низким содержанием CD34+ лейкоцитов характеризовались более выраженным количеством субпопуляций CD34+CD45neg ($p = 0,039$), более выраженным количеством СКК, позитивных для антигена CD7 ($p = 0,045$) и большим числом CD34+CD38+ СКК ($p = 0,023$).

В целом по группе средняя скорость восстановления тромбоцитов до 20000 клеток/мкл составила $14,26 \pm 1,14$ дня при медиане 12 дней и разбросе от 9 до 59 дней. Средняя скорость восстановления нейтрофилов до 600 клеток/мкл составила $12,2 \pm 0,3$, при медиане 12 дней и разбросе от 7 до 24 дней. Более быстрое восстановление тромбоцитов было связано с большей суммарной трансплантационной дозой CD34+ клеток на кг ($4,05 \times 106$ против $2,94 \times 106$ /кг, $p = 0,029$). При анализе всей группы трансплантаций более быстрое восстановление тромбоцитов было связано с высоким содержанием в трансплантированном материале абсолютного количества клеток популяции CD34+CD45low ($1,28 \times 106$ /кг, $n = 25$ против $0,71 \times 106$ /кг, $n = 17$, $p = 0,047$).

Более быстро восстанавливались нейтрофилы в случае более низкого содержания в трансплантационной ткани, полученной за первый ЛФ, абсолютного количества клеток субпопуляции CD34+CD45low ($0,5 \times 106$ /кг, $n = 21$ против $1,58 \times 106$ /кг, $n = 20$, $p = 0,019$). Тенденция сохранялась и в случае низкого содержания в трансплантационном материале первого дня сбора суммарных популяций CD34+CD45neg клеток ($0,8 \times 106$ /кг, $n = 21$ против $1,8 \times 106$ /кг, $n = 20$, $p = 0,05$). С целью выявления оптимальных пороговых значений качественных характеристик трансплантационной ткани сроки восстановления основных показателей кроветворения были проанализированы в зависимости от количественного содержания суммарного пула СКК и субпопуляций.

Более короткие сроки восстановления тромбоцитов и нейтрофилов отмечены при трансплантации $1,0 \times 106$ /кг и более CD45lowCD34+ СКК ($p = 0,04$). Восстановление нейтрофилов до 600 клеток на мкл в сроки до 10 дней опосредовано большей трансплантируемой дозой CD34+CD45neg СКК ($p = 0,049$) и невысоким (менее 70,0%) количеством CD33+CD34+ СКК ($p = 0,05$). Устойчивое восстановление тромбоцитов до 20000 клеток на мкл в сроки до 11 дней следует ожидать, если ЛП первого дня сбора содержит более 35,0% CD34+CD90+ СКК ($p = 0,05$) и более 5,0% CD34+CD7+ СКК ($p = 0,0001$).

Заключение. При прогнозе эффекта восстановления кроветворения в случае высокодозной химиотерапии и аутологичной трансплантации периферических стволовых кроветворных клеток у онкогематологических больных взрослого возраста целесообразна оценка не только суммарного пула CD34+ трансплантируемых стволовых кроветворных клеток, но и подробная характеристика субпопуляций СКК, и в первую очередь, пропорции ранних CD45neg, CD90+ СКК и СКК миелоидной рестрикции (CD33+).

Прогностическое значение показателей ИФТ костного мозга у больных множественной миеломой

Лысенко И. Б., Новикова И. А.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

Применение иммунофенотипических и молекулярных исследований для оценки эффекта терапии является стандартной практикой при многих типах гемобластозов. Современные протоколы химио- и/или иммунотерапии могут приводить к полной элиминации опухолевых клеток, что позволяет констатировать у больного наличие МРБ-негативной ремиссии. До последнего метода оценка эффективности терапии больных множественной миеломой оценивалась по клиническим, морфологическим и серологическим параметрам.

Цель исследования. Изучить прогностические возможности показателей иммунофенотипирования костного мозга у пациентов с множественной миеломой

Материалы и методы. В исследование были включены 16 пациентов множественной миеломой в возрасте 55–68 лет: 11 (69%) женщин и 5 (31%) мужчин. Диагноз был установлен на основании данных миелограммы, электрофореза белков сыворотки крови и мочи, рентгенографии, компьютерной томографии. У всех пациентов выявлены II–III стадии процесса. Явления хронической почечной недостаточности 2ст определены у 3 пациентов.

Для иммунофенотипирования костный мозг в количестве 0,5–1 мл забирался в пробирки Vacutainer (BD, USA) с сухим ЭДТА. Подготовка проб была осуществлена по методике окрашивание-лизис-отмывка с использованием прибора Lyse-Washassistant. Анализ антигенной экспрессии (CD38, CD138, CD56, CD117, CD45) был проведен на проточном цитометре FACSCantoII (Becton Dickinson, USA).

Кроме того, до лечения и на этапах терапии проводилось ДНК-цитометрическое исследование мононуклеаров костного мозга с определением плоидности и характером распределения клеток по фазам клеточного цикла.

Результаты. Всем пациентам проводилась химиотерапия по схемам: M2, VBAR, ревлидид, велкейд. ИФТ костного мозга выполнялось исходно до начала лечения и после 4–6 курсов химиотерапии. В результате проводимого лечения у 9 (56%) пациентов достигнута частичная ремиссия, у 4 (25%) пациентов отмечено первично резистентное течение, у 3 (19%) пациентов стабилизация процесса.

У пациентов с частичной ремиссией в динамике отмечалось снижение количества клеток с иммунофенотипом (CD38, CD138, CD56, CD117, CD45) до 0,23–0%, в то время как при резистентном течении заболевания клетки с иммунофенотипом (CD38, CD138, CD56, CD117, CD45) составляли от 34 до 42%.

Данные ДНК-цитометрического исследования мононуклеаров костного мозга находятся в обработке.

Заключение. Определение минимальной остаточной болезни методом иммунофенотипирования клеток костного мозга позволяет проводить сравнение эффективности различных схем лечения, подбирать индивидуальные режимы терапии и оценивать их эффективность.

Сравнительный анализ современных режимов мобилизации стволовых кроветворных клеток в периферическую кровь

Моталкина М. С.¹, Кулева С. А.^{1,2}, Алексеев С. М.¹, Зюзгин И. С.¹, Филатова Л. В.¹, Жабина А. С.¹, Рязанкина А. А.^{1,3}, Артемьева А. С.¹, Семглазова Т.

Место работы: 1. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт он-

кологии им. Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия; 2. Государственное бюджетное образовательное учреждение.

e-mail: margarita.motalk@mail.ru

Активное использование стволовых кроветворных клеток (СКК) в клинической практике изменило традиционный взгляд на лечение целого ряда заболеваний. Применение различного рода колониестимулирующих факторов, а также цитокинов и биологически активных веществ увеличивает шансы успешной мобилизации гемопоэтических стволовых клеток с целью их дальнейшей трансплантации после высокодозной химиотерапии (ХТ).

Целью исследования явилось проведение сравнительного анализа нескольких режимов мобилизации в периферическую кровь стволовых кроветворных клеток, а также оценка эффективности новой комбинации с применением плериксафора как мобилизующего препарата, позволяющего избежать использования химиотерапии в качестве основной стратегии сбора СКК периферической крови и связанных с ней осложнений, и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) продленного действия пэгфилграстима.

Материалы и методы. Нами проанализированы данные 130 процедур афереза, осуществленных у 98 больных с различными гематологическими заболеваниями: у 69 больных осуществлена 1 процедура афереза, у 26 пациентов было выполнено 2 процедуры мобилизации СКК и у 3 больных – 3 операции афереза. У 5 пациентов (5%) в связи с недостаточным содержанием CD34+ клеток в периферической крови инициировать аферез, так и не удалось. У 49 включенных в исследование пациентов (47,7%) диагностирована лимфома Ходжкина, у 43 больных (41,7%) – неходжкинская лимфома и у 11 (10,6%) – множественная миелома. При заготовке СКК были использованы следующие режимы мобилизации:

- режим «ДНАР (цитарабин, цисплатин, дексаметазон) + Г-КСФ (5 мкг/кг/сут)» проведен 57 пациентам (55,3%) – группа № 1;
- режим «Циклофосфамид 4 г/м² + Г-КСФ (5 мкг/кг/сут)» – 11 пациентам (10,7%) – группа № 2;
- режим «ВеГеВ (бендамусин, гемцитадин, винбластин) + Г-КСФ (10 мкг/кг/сут)» проведен 10 пациентам (9,7%) – группа № 3
- режим «Пэгфилграстим (6 мг/сут) + Плериксафор (0,24 мг/кг/сут)» – 25 пациентам (24,3%) – группа № 4.

В первых трех группах использовались режимы комбинированной мобилизации СКК – опухольспецифическая химиотерапия + Г-КСФ (с пятого дня каждого курса ПХТ). Аферез проводился только в том случае, если количество CD34+ клеток в 1 мл периферической крови было > 20 клеток. Режим мобилизации в группе № 4 выглядел следующим образом: в день 1 подкожно выполнялась инъекция пэгфилграстима в дозе 6 мг (0,6 мл); в 6:00 утра 4 дня, за 11 часов до предполагаемой процедуры афереза, подкожно выполнялась инъекция плериксафора из расчета 0,24 мг/кг. В эту группу вошли пациенты, которые в соответствии с международными прогностическими факторами в дебюте заболевания имели высокий риск развития рецидива, однако на этапе мобилизации СКК они не нуждались в дополнительных курсах ХТ, так как после индукционной противоопухолевой терапии у них был достигнут полный ответ.

Результаты. Количество CD34+ клеток в конечном продукте в четырех группах составило 7,6х10⁶/кг массы тела. В груп-

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

пе № 1 уровень собранных CD34+ клеток был 8,6x106/кг массы тела; в группе № 2–10,5x106/кг массы тела; в группе № 3–6,4x106/кг массы тела; в группе № 4–4,9 x106/кг массы тела. Другими словами, все мобилизационные режимы оказались адекватными, т.к. минимальной для приживания трансплантата является доза 2 x 106 CD34+ клеток/кг, оптимальной – 4–6 x 106 клеток/кг. Значимых проявлений токсичности ни в одной из групп зарегистрировано не было. Все нежелательные реакции наблюдались только в первых трех группах и были представлены гематологическими осложнениями после ХТ.

Выводы. Режим мобилизации «Пэгфилграстим (6 мг/сут) + Плериксафор (0,24 мг/кг/сут)» является комфортным и малотоксичным. Он не нуждается в коррекции осложнений, возникающих на фоне химиотерапии.

Прогностическая роль экспрессии раково-тестикулярных генов у больных В-клеточными лимфомами

Мисюрин В.А.¹, Мисюрин А.В.¹, Мисюрина А.Е.², Финашутин Ю.П.¹, Кесаева Л.А.¹, Лыжко Н.А.¹, Сальник А.А.¹, Слёткина С.Ю.¹, Степанова С.С.¹, Комаров И.Г.¹, Марьин Д.С.², Нестерова Е.С.², Марголин О.В.², Барях Е.А.², Кравченко С.К.²

Место работы: 1. ФГБУ «Российский онкологический научный центр» МЗ РФ; 2. Гематологический научный центр МЗ РФ
e-mail: vsevolod.misyurin@gmail.com

Цель. Активность раково-тестикулярных генов (РТГ) при В-клеточных лимфомах проявляется вследствие эпигенетических изменений в опухолевой клетке. Нашей целью было сравнение профиля экспрессии РТГ у больных с различными В-клеточными лимфомами.

Материалы и методы. Для количественного определения уровня экспрессии мРНК РТГ NY-ESO-1, MAGEA1, PASD1, SCP1, SEMG1, SPANXA1, SSX1 и PRAME относительно гена Abl мы использовали метод RQ PCR. В экспериментах использовались системы специфических праймеров и зондов. мРНК была выделена из периферической крови (ПК) и лимфатических узлов (ЛУ) 27 больных с диагнозом лимфома Ходжкина (ЛХ); косного мозга (КМ) 17 больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ); 22 ЛУ больных фолликулярной лимфомой (ФЛ); 6 ЛУ больных лимфомой Беркитта (ЛБ); 11 ЛУ больных лимфомой из клеток мантийной зоны (ЛМЗ); 8 ЛУ больных первичной медиастинальной В-крупноклеточной лимфомой (ПМВККЛ); 8 ЛУ больных лимфомой из клеток маргинальной зоны (ЛКМЗ). Все образцы были получены от первичных больных. В качестве отрицательного контроля использовалась кровь 16 здоровых доноров. Сравнения профилей экспрессии РТГ у больных различными В-клеточными лимфомами использовался критерий Манна-Уитни.

Результаты. В крови здоровых доноров не наблюдалось экспрессии РТГ. Экспрессия РТГ выявлена практически у всех больных. В некоторых случаях в ПК, КМ и ЛУ были активны от 2 до 6 генов. В ЛУ больных ЛХ был выявлен следующий профиль экспрессии генов: NY-ESO-1 – в 6 из 27 случаев (на среднемедианном уровне 6,4% относительно гена Abl); MAGEA1 – в 2/27 (62%); PASD1 – в 4/27 (0,7%); SCP1 – в 3/27 (2,3%); SEMG1 – в 7/27 (2,3%); SPANXA1 – в 4/27 (2,5%); SSX1 – в 2/27 (20%) и PRAME – в 17/27 (12%). В ЛУ больных ФЛ ген MAGEA1 экспрессировался в 1/22; SCP1 – в 3/22; SEMG1 –

в 8/22; SPANXA1 – в 7/22 и PRAME – в 14/22. В ЛУ больных ЛБ экспрессировался ген SEMG1 – в 1 из 6 случаев (0,6%).

У больных ЛМЗ наблюдалась экспрессия гена NY-ESO-1 – в 1/11 (1,7%); SEMG1 – в 3/11 (37%); SPANXA1 – в 3/11 (11%); SSX1 – в 1/11 (0,1%) и PRAME – в 3/11 (20%). У больных ПМВККЛ мРНК гена NY-ESO-1 была обнаружена в 3/8 (0,2%); SEMG1 – в 2/8 (97%); SPANXA1 – в 2/8 (0,3%) и PRAME – в 3/8 (9,1%). Наконец, в ЛУ больных ЛКМЗ экспрессировались гены SCP1 – в 1/8 случаях (0,2%); SEMG1 – в 2/8 (3%); SSX1 – в 1/8 (0,3%) и PRAME – в 1/8 (1,4%). С наибольшей частотой РТГ были активны у больных с диагнозом ЛХ. В данной группе экспрессия РТГ наблюдалась чаще, чем у больных ФЛ (p=0,048), ЛБ (p=0,001), ЛМЗ (p=0,022), ЛКМЗ (p=0,003), и достоверно чаще, чем у больных ПМВККЛ (p=0,12). Уровни экспрессии РТГ при ЛХ были существенно выше, чем при других В-клеточных лимфомах (p<0,05).

Заключение. Профиль экспрессии РТГ отличается при различных В-клеточных лимфомах. Наиболее разнообразный профиль экспрессии РТГ наблюдается при лимфоме Ходжкина. Высокие уровни экспрессии этих генов позволяют их рассматривать как мишени для иммунотерапии.

Радиохирургическое лечение метастазов в головной мозг

Голанов А.В., Банов С.М., Ильялов С.Р., Ветлова Е.Р., Осин И.К.

Место работы: ФГБУ НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, Центр Гамма Нож, г. Москва

e-mail: smbanov@gmail.com

Симптоматические метастазы в головной мозг (МГМ) встречаются у 8–10% онкологических больных. Частота встречаемости МГМ, вероятно, будет возрастать, поскольку общая выживаемость онкологических пациентов увеличивается в связи с совершенствованием лекарственного лечения.

Цель. Изучить показатели общей выживаемости и частоты интракраниальных рецидивов пациентов с метастазами в головной мозг после проведения радиохирургического лечения на аппарате Гамма-нож в самостоятельном варианте лечения. Методы. Проведён анализ результатов лечения 502 пациентов с метастазами в головной мозг (211 мужчин и 291 женщина). У большинства пациентов (n=142; 28,2%) был диагноз рак молочной железы. У 259 пациентов (51,6%) были множественные (≥3) метастазов в головном мозге. Медиана суммарного объема и количества метастазов в головном мозге для каждого пациента составила 5,9 см3 (интервал 0,09–44,5) и 4 (интервал 1–36) соответственно. Средняя краевая доза ионизирующего облучения была 21 Гр (интервал 15–24 Гр). Среднее время клинического наблюдения составило 10,6 месяцев (интервал 0,2–47,2 месяцев).

Результаты. Общая выживаемость пациентов в целом по группе составила 37,6% и 19,1% на сроке 12 и 24 месяца соответственно с медианой общей выживаемости после радиохирургического лечения 8,6 месяцев (95% доверительный интервал (ДИ) – 7,0–10,0).

Развитие новых (дистантных) метастазов зарегистрировано у 164 (49,5%) пациентов. Медиана развития дистантного метастазирования – 8,8 месяцев (95% ДИ 7,3–10,6). Выживаемость без развития дистантного метастазирования на сроке 12 и 24 месяца составляет 38,9% и 24,3% соответственно.

Локальные рецидивы зарегистрированы у 72 (22,2%) паци-

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

ентов. У 84,7% пациентов этой группы локальный рецидив развивался в течение первых 12 месяцев, а у 15,3% – в период от 12 до 24 месяцев. Медиана времени развития локального рецидива – 6,9 месяцев (95% ДИ 5,9–8,2).

В многофакторном анализе метастазы радиочувствительных опухолей ($p=0,0027$), ограниченное (≤ 3) метастатическое поражение головного мозга ($p=0,0269$) и хороший функциональный статус ($p=0,0002$) являются факторами лучшей выживаемости больных с метастатическим поражением головного мозга.

Выводы. Проведение радиохирургического лечения пациентов с метастатическим поражением головного мозга обеспечивает в целом по группе медиану общей выживаемости 8,6 месяцев, что превышает аналогичный показатель у больных RPA 1 класса (7,1 месяц), получивших облучение всего головного мозга в самостоятельном варианте лечения.

Наибольшее увеличение медианы общей выживаемости достигается у пациентов с хорошим функциональным статусом, ограниченным метастатическим поражением головного мозга и метастазами радиочувствительных опухолей.

Проведение облучения всего головного мозга у больных с хорошим функциональным статусом и ограниченным метастатическим поражением головного мозга представляется сомнительным, а в группе больных с множественными метастазами в головном мозге требуется уточнение подгруппы, где проведение облучения всего головного мозга будет эффективно.

Повторное проведение радиохирургического лечения, в случае развития интракраниальных рецидивов, обеспечивает лучшие показатели выживаемости в сравнении с другими методами лечения.

Факторы локального иммунитета при различных злокачественных и доброкачественных опухолях

Златник Е. Ю., Новикова И. А., Никипелова Е. А., Бахтин А. В., Загора Г. И., Селютин О. Н.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону
e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Выявление особенностей взаимодействия иммунной системы и опухоли на локальном уровне при опухолях различных локализаций, распространенности, гистогенеза, плоидности; оценка влияния различных методов лечения на состояние локального иммунитета.

Материалы и методы. Исследовали образцы тканей опухоли и перитуморальной зоны 330 больных злокачественными и 133 больных доброкачественными новообразованиями, взятые при проведении операции. Иммунологическое исследование проводили с помощью проточной цитофлюориметрии, ИФА и ИГХ-методов. Определяли состав лимфоцитарных субпопуляций CD45+, CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD16+/56+, CD19+; в ряде случаев Tregs, TCR $\alpha\beta$ и TCR $\gamma\delta$, Т-клетки памяти (CD3+CD4+CD45RO+CD45RA-, CD3+CD8+CD45RO+CD45RA-) и наивные Т-лимфоциты (CD3+CD4+CD45RA+CD45RO-CD62L+, CD3+CD8+CD45RA+CD45RO-CD62L+), уровни цитокинов TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-1RA, IFN- α и γ , плоидность и пролиферативную активность опухолевых клеток.

Результаты. Состав субпопуляций лимфоцитов и уровни цитокинов в тканях различных опухолей имеет отличия от

показателей немалигнизированных тканей соответствующих органов, а перитуморальные зоны в большинстве случаев демонстрируют промежуточные значения изученных иммунологических факторов. Сравнение факторов локального иммунитета в ткани доброкачественных и злокачественных опухолей (гепатоцеллюлярной карциномы и непаразитарных кист печени, аденокарциномы и тубулярной аденомы толстой кишки, меланомы и базалиомы) выявило более глубокие изменения при злокачественных. Установлено, что ткань метастатических опухолей характеризуется более выраженным угнетением локального иммунитета, чем ткань первичных опухолей, а в первичных опухолях его угнетение более значительно при более распространенном процессе.

При метастатических опухолях печени отмечено подавление моноцитарного звена, низкие уровни Т-, В-, NK-лимфоцитов по сравнению с немалигнизированной тканью; снижение функциональной активности Т-клеток, дисбаланс локальной продукции монокинов (TNF- α , IL-8) и лимфокинов (IFN- γ , IL-4); при этом уровень NK-клеток (CD56+) в ткани метастаза превышает их содержание в периферической крови. Подобные изменения наблюдаются и в образцах перитуморальной зоны метастаза.

Состав субпопуляций лимфоцитов в ткани аденокарциномы толстой кишки отличается от неизмененной ткани накоплением в опухоли Т-лимфоцитов с преобладанием рециркулирующих клеток TCR $\alpha\beta$ над резидентными TCR $\gamma\delta$ и CD3+CD4+клеток над CD3+CD8+, а также более низким уровнем В-лимфоцитов. Изменения местного иммунитета затрагивают и перитуморальную ткань, которая по содержанию исследованных лимфоцитарных субпопуляций имеет сходство как с опухолью, так и с линией резекции, отличаясь от последней более высоким уровнем В-лимфоцитов и более низким уровнем CD3+CD8+ клеток.

Уровни большинства провоспалительных цитокинов в ткани аденокарциномы толстой кишки резко превышают их содержание в немалигнизированной ткани, а также в ткани тубулярной аденомы. Высокий уровень провоспалительных цитокинов, формирующийся, вероятно, вследствие как их продукции опухолевыми клетками, так и локального воспалительного процесса, может вносить вклад в прогрессию и диссеминацию опухоли.

При генерализованном колоректальном раке по сравнению с местнораспространенным нарушением локального иммунитета происходят не только в перитуморальной области, но и в ткани линии резекции, в которой происходит снижение уровня предшественников ЦТЛ (CD3+CD8+), что может вызывать угнетение цитотоксического потенциала ткани.

Анеуплоидность аденокарцином толстой кишки является фактором формирования выраженных нарушений локального иммунитета. В анеуплоидных опухолях и в их перитуморальной области выявлены более глубокие нарушения лимфоцитарного состава по сравнению с диплоидными; в опухолях с наибольшим количеством анеуплоидных клеток обнаружено максимальное содержание CD3+CD4+ лимфоцитов по сравнению с опухолями, содержащими меньший процент таких клеток, а уровень CD3+CD8+ лимфоцитов в них был минимальным; различия сохранялись и в перитуморальной области.

Опухоль толстой кишки, по-видимому, формирует вокруг себя такое лимфоцитарное и цитокиновое микроокружение, которое может способствовать ее дальнейшему росту (высокое содержание CD3+CD4+ Т-лимфоцитов, высокие уровни

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

провоспалительных цитокинов), а те защитные механизмы, которыми перитуморальная ткань могла бы этому препятствовать (в виде повышения концентрации в ней В-, NK-лимфоцитов и ЦТЛ), оказываются неэффективными.

На формирование факторов локального иммунитета оказывают влияние как гистологическое происхождение, так и органное окружение опухоли: при перстневидноклеточном и недифференцированном раке желудка их нарушения носят более выраженный характер, чем при аденокарциноме желудка. Аденокарцинома желудка отличается от аденокарциномы толстой кишки более высоким уровнем в ней и в ее перитуморальной области клеток, опосредующих врожденный иммунитет (NK-лимфоцитов), при более низком содержании клеток адаптивного иммунитета (Т- и В-лимфоцитов).

Факторы локального иммунитета у больных раком желудка демонстрируют позитивную динамику при применении неоадьювантной и интраоперационной химиотерапии в сопровождении препарата ронколейкина (повышение тканевого уровня CD3+CD8+), а также озонированного физиологического раствора (повышение в тканевых образцах уровня Т-лимфоцитов за счет обеих основных субпопуляций).

Применение препарата лактоглобулина в курсе периоперационной профилактики гнойно-септических осложнений у больных колоректальным раком приводит к коррекции факторов локального иммунитета по сравнению с больными, получавшими стандартную антибиотикопрофилактику (снижению тканевого уровня IL-1 и IL-6, повышению содержания CD3+CD8+ лимфоцитов в ткани линии резекции).

В асцитической жидкости больных генерализованным раком яичника не обнаружено отличий содержания лимфоцитов основных субпопуляций от крови, однако, найдены более высокие уровни лимфоцитов с фенотипом Т-клеток памяти, а также провоспалительных цитокинов.

Заключение. У больных различными опухолями выявлены нарушения локального иммунитета, более глубокие при злокачественных новообразованиях по сравнению с доброкачественными, при генерализованном раке по сравнению с метастораспространенным и при анеуплоидных аденокарциномах по сравнению с диплоидными.

Найденные изменения местного иммунитета свидетельствуют о доминировании локальных сдвигов над системными, что может служить основанием для проведения иммунотерапии. Примененные методы неоадьювантного лечения способствуют более сохранному состоянию локального иммунитета ткани линии резекции, что приводит к уменьшению количества осложнений и дает возможность профилактики локальных рецидивов.

Повторная радиохirurgия локальных рецидивов метастазов в головной мозг

Ветлова Е. Р.¹, Голанов А. В.¹, Банов С. М.², Дургарян А. А.¹
Место работы: 1. ФГБУ НИИ нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко; 2. Центр Гамма Нож, г. Москва
e-mail: vetlova@inbox.ru

Метастазы в головной мозг встречаются у 8–10% больных с онкологическими заболеваниями. Продолжительность жизни пациентов с метастазами в головной мозг (МГМ) возрастает, в связи с совершенствованием методик лечения этой группы больных. Стереотаксическая радиохirurgия (РХ) в самостоятельном варианте или в комбинации с облучением всего головного мозга в настоящее время становится стандартной лечебной

опцией. Частота локального рецидивирования МГМ после ранее проведенного лечения, по литературным данным, составляет от 9% до 28% и существенно влияет на качество жизни и общую выживаемость. Вопросы лечения рецидивов МГМ после лучевой терапии, остаются открытыми.

Цель. Изучить выживаемость больных до локального рецидива после радиохиргического лечения. Оценить показатели выживаемости после повторной радиохиргрии по поводу локальных рецидивов МГМ.

Материалы и методы. Проведен анализ результатов радиохиргического лечения 502 пациентов с метастазами в головной мозг (211 мужчин и 291 женщина) на аппарате «Гамма-нож». Локальные рецидивы (ЛР) зарегистрированы у 72 (22,2%) пациентов. У 84,7% пациентов этой группы локальный рецидив зарегистрирован в течение первых 12 месяцев, а у 15,3% – в период от 12 до 24 месяцев. Медиана времени развития локального рецидива – 6,9 месяцев (95% ДИ 5,9–8,2). Данные общей выживаемости доступны у 41 пациента. Из них МГМ радиочувствительных опухолей были у 19 человек (46,3%), а радиорезистентных опухолей – у 22 (53,7%). Тридцати пациентам проведена повторная радиохirurgия по поводу локальных рецидивов, а 11 пациентов специального локального лечения не получали.

Результаты. Время до развития локального рецидива, в целом по группе, в среднем составило 8 месяцев, а выживаемость после выявления локального рецидива – 8,4 месяца.

Время до развития ЛР в группах радиочувствительных и радиорезистентных МГМ составило 10,9 и 5,4 месяцев соответственно. Выживаемость больных с МГМ после регистрации локального рецидива в группах радиочувствительных и радиорезистентных опухолей составило 11,5 и 5,7 месяцев (p=0,0446) соответственно.

Выживаемость после развития локального рецидива в группе больных, которым проведена РХ, составила 10,4 месяца, а в группе больных без специального локального лечения – 3 месяца (p=0,049).

Заключение. Проведение повторного радиохиргического лечения в случае развития локальных рецидивов метастазов в головной мозг является оправданной опцией и увеличивает общую выживаемость таких пациентов.

Лучшая выживаемости достигается у пациентов с локальными рецидивами метастазов в головной мозг радиочувствительных опухолей, которым проведена повторная радиохirurgия. Метастазы в головной мозг радиорезистентных опухолей являются фактором раннего локального рецидива и худшей выживаемости.

Современные возможности высокодозного стереотаксического облучения в лечении метастатического поражения головного мозга

Иванов П. И., Зубаткина И. С., Андреев Г. И., Тумарова Д. И., Кузьмин А. В., Кубасов А. В., Плугарь И. В.
Место работы: Радиохиргический Центр Международного Института Биологических Систем
e-mail: ivanov@ldc.ru

Цель. Показать возможности высокодозного стереотаксического облучения в лечении метастатического поражения головного мозга, выбор оптимального режима облучения и радиохиргической установки.

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

Материалы и методы. С ноября 2008 года по март 2015 года в Радиохирургическом центре МИБС (Санкт-Петербург, Россия) 1850 пациентам с метастатическим поражением головного мозга было проведено высокодозное стереотаксическое лучевое лечение на аппаратах Гамма-Нож (Leksell Gamma Knife, Elekta AB, Sweden) и Кибер-Нож (Cyber Knife, Accuray, USA) и линейном ускорителе TrueBeam STX (Varian Medical Systems, Palo Alto, CA), оборудованном системой BrainLAB ExacTrac.

У большинства пациентов было выявлено множественное метастатическое поражение головного мозга (92%). Распределение пациентов в зависимости от локализации первичной опухоли было следующее: рак легкого 27%, рак молочной железы 24%, меланома 21%, рак ЖКТ 12%, рак почки 10%, другие локализации 6%. Средняя оценка пациентов по шкале Карновского составила 80 баллов. Для планирования облучения использовались данные МР-томографии с толщиной срезов 1 мм в режимах T 2, T 1 и T 1 с контрастным усилением и компьютерной томографии.

Дозиметрические расчеты выполнялись в системах планирования Gamma Plan, MultiPlan и Eclipse. Высокодозное стереотаксическое облучение проводилось в режимах радиохирургии, гипофракционирования и адаптивного гипофракционирования. Дозы облучения при радиохирургии составляли от 18 до 24 Гр по краю опухоли, при режиме гипофракционирования от 24 до 30 Гр за 3 сеанса. Адаптивное гипофракционирование заключалось в коррекции дозиметрического плана на основе данных МРТ пациента в ходе курса лечения. Контрольное МРТ исследование проводилось по стандартному протоколу с интервалом в 3 месяца. Для оценки лучевого ответа проводился волюметрический анализ метастатических очагов, подвергнутых стереотаксическому облучению, при помощи программного обеспечения Leksell Gamma Plan Follow-up.

Результаты. Эффективность радиохирургического лечения (достижение локального контроля роста метастазов, т.е. уменьшение или стабилизация размеров очага) составила 94%. Минимальный срок наблюдения составил 6 месяцев после лечения. Высокодозное стереотаксическое облучение было одинаково эффективно для метастазов радиочувствительных и радиорезистентных опухолей. Режим гипофракционирования применялся для лечения метастазов большого объема или в случае их локализации вблизи критических структур головного мозга.

Использование этой методики позволяло подвести эффективную дозу радиации с высокой точностью и с соблюдением толерантных нагрузок на окружающие ткани мозга. Осложнения, связанные с применением высокодозного стереотаксического облучения, отмечались у 12% пациентов и проявлялись в виде постлучевого некроза ткани опухоли в период от 6 до 12 месяцев после проведенного лечения. В случае наличия симптоматического отека назначение противоотечной терапии позволяло добиться регресса клинических проявлений. Анализ продолжительности жизни методом Каплана-Майера показал, что продолжительность жизни пациентов после радиохирургии и гипофракционирования различалась в зависимости от RPA класса. Наибольшая медиана выживаемости отмечалась у пациентов в RPA I (более 12 месяцев).

Заключение. Стереотаксическое высокодозное лучевое воздействие (радиохирургия или гипофракционирование) является эффективным и безопасным методом лечения ме-

тастазов рака в головной мозг и может использоваться в комплексном лечении онкологических пациентов.

Диагностика легочных гранулематозов и метастатических опухолей легких по данным МСКТ

Амансахедов Р.Б.¹, Перфильев А.В.¹, Сигаев А.Т.¹, Видюков В.И.²

Место работы: 1. ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза»; 2. ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава РФ

e-mail: rasul.amansahedov@mail.ru

Цель исследования. Совершенствование диагностики и дифференциальной диссеминированного туберкулеза легких, саркоидоза органов дыхания, аллергического альвеолита и метастатических опухолей легких путем изучения в сравнительном аспекте их КТ семиотики.

Материалы и методы. Для решения поставленных задач всего обследовано 126 больных с легочными диссеминациями, обратившихся в ФГБУ «ЦНИИТ». У всех пациентов подробно изучался анамнез, проводилось физикальное обследование, клинический и биохимический анализ крови, ЭКГ, анализ мочи, газовый состав крови, функцию внешнего дыхания (ФВД), рентгенографию, компьютерную томографию органов грудной клетки высокого разрешения (КТВР). В обязательном порядке проводилась бронхоскопия со взятием бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и чрезбронхиальной биопсии легочной ткани, которые подвергались цитологическому и гистологическому исследованию.

В 17 случаях выполнялась видеоторакотомия легкого, и гистологическому исследованию подвергались полученные материалы биопсии легкого. В результате проведенных диагностических мероприятий из 126 больных диссеминированный туберкулез легких (ДТЛ) установлен у 35 пациентов, экзогенный аллергический альвеолит (ЭАА) был диагностирован – у 25 пациентов, саркоидоз органов дыхания (СОД) – у 45 пациентов, у 15 метастатическое поражение легких, в четырех случаях диагностирован гранулематоз Вегенера, в двух случаях – инвазивный легочный аспергиллез.

Исследование проведено на мультисрезовом компьютерном томографе (МСКТ) Somatom Emotion 16 фирмы Siemens. Всем пациентам проводилось спиральное сканирование от верхней апертуры грудной клетки до реберно-диафрагмальных синусов с применением КТ высокого алгоритма (high resolution) с толщиной 0,8 мм и шагом (pitch) 1,5 мм, а так же проведен анализ полученных данных в разных проекциях МIP (проекция максимальной интенсивности), MPR (мультипланарная реконструкция), VRT (метод объемной визуализации).

Результаты. Исследования показали, что при ДТЛ, ЭАА, СОД и при метастатических процессах очаги диссеминации локализовались в перибронховаскулярном интерстиции и отличались преобладанием, при ДТЛ септальным, интрабронхиальным расположением при ЭАА чаще – центрилобулярным, СОД – перилимфатическим, а при метастатических процессах периваскулярным, субплевральным распределением.

Центрилобулярные очаги при ЭАА и СОД отображались чаще как четко или нечетко очерченные, при ДТЛ – смешанные, а при метастатических очагах как четко отграниченные узелки.

При ДТЛ центрилобулярные очаги находились на расстоянии от висцеральной плеврой в 38% случаев, а при ЭАА, СОД, метастатических процессах – с вовлечением висцеральной

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

плевры в 92% случаев. Анализ плотности легочной паренхимы по шкале Хаунсфилда показал, что если при ДТЛ, метастатических процессах и СОД общая плотность паренхимы чаще находится в пределах вариантов нормы (950–850НУ), то при ЭАА она повышается и находится в пределах 850–600НУ.

Симптом «матового стекла» возникает в результате усреднения плотностных показателей воздуха и измененных анатомических структур легочной ткани, величина которых находится за пределами разрешающей способности КТ. Морфологической основой матового стекла являются: утолщение интерстиция межаулеолярных перегородок, частичное заполнение альвеол патологическим содержимым или оба процесса одновременно. Результаты исследования показали, что «матовое стекло» достоверно чаще наблюдается при ЭАА (соответственно 76,7% $p < 0,01$).

Элементы «матового стекла» преимущественно располагались как вокруг очагов, так и в виде лобулярных, сегментарных, лобарных изменений. Увеличение лимфатических узлов средостения чаще определялись при СОД и метастатических процессах. Выпот серозных полостях при ДТЛ и метастазах в органах грудной полости.

Было установлено, что при ДТЛ, метастатических процессах и СОД чаще наблюдалось вовлечение в процесс как висцеральной, так и париетальной плевры. При ЭАА чаще в процесс вовлекалась висцеральная плевра.

Заключение. Таким образом, результаты исследования показали что, для анализируемых групп характерным явились следующие локализации очагов: для ДТЛ – септальное, интрабронхиальное расположение, ЭАА чаще – центрилобулярное, СОД – перилимфатическое, а при метастатических процессах периваскулярное и субплевральное распределение.

Было установлено, что при ДТЛ, метастатических процессах и СОД чаще наблюдалось вовлечение в процесс как висцеральной, так и париетальной плевры. При ЭАА чаще в процесс вовлекалась висцеральная плевра.

Предварительные результаты проспективной многоцентровой наблюдательной программы оценки популяции пациентов с лекарственно-индуцированным поражением печени (ЛИПП) вследствие химиотерапии, получающих Гептрал® в РФ

Снеговой А. В.¹, Ларионова В. Б.¹, Зейналова П. А.¹, Манзюк Л. В.¹, Крейнина Ю. М.², Когония Л. М.³

Место работы: 1. ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина», МЗ РФ, г. Москва; 2. Российский научный центр рентгенорадиологии, г. Москва; 3. Кафедра онкологии и торакальной хирургии ФУВ МОНИКИ им Владимирского, г. Москва
e-mail: drsneg@gmail.com

Цель. Охарактеризовать популяцию пациентов с хроническими болезнями печени при развитии ЛИПП вследствие химиотерапии. В этой же популяции пациентов при развитии ЛИПП мы оценивали эффективность терапии адеметионином.

Материалы и методы. В исследовании участвовали 9 центров Российской Федерации (Москва, Уфа, Томск, Пенза). Это была неинтервенционная, проспективная, односторонняя, многоцентровая программа наблюдения, в которой изучалось применение пре-парата адеметионин (Гептрал®, Эбботт Лэбораториз) по стандартной схеме. Все пациенты получали противоопухолевое лечение в соответствии

с планом, установленным врачом. В программу включались и анализировались данные пациентов, соответствующие следующим критериям: с хроническими заболеваниями печени при ЛИПП вследствие химиотерапии, с лабораторными и клиническими признаками внутрипеченочного холестаза, в возрасте от 18 до 65 лет. Пациенту назначали Гептрал в соответствии с зарегистрированной инструкцией по медицинскому применению.

Период наблюдения, в течение которого пациенты получали лечение, составил 6 нед. В рамках стартовой терапии около 2 нед пациенты получали Гептрал® (в/в или в/м) в дозе 400–800 мг/сут; после чего назначалась пероральная поддерживающая терапия Гептралом в дозе 800–1600мг/сут (в таблетках), продолжавшаяся еще около 4 недель. Согласно протоколу исследования оценка пациентов проводилась 4-кратно: исходный статус и начальная терапия гептралом; 14 день (от 10 до 21 дня), когда принималось решение перевести пациента с начальной терапии на поддерживающую терапию; 42 день после 1 дозы Гептрала от перевода с начальной терапии на поддерживающую; визит для последующего наблюдения – приблизительно на 72 день после первой инфузии Гептрала и на +30 день после последней дозы Гептрала. Это мог быть и телефонный контакт. Наблюдение после последнего приема Гептрала целенаправленно продолжено до 30 дней для оценки безопасности (НЯ и СНЯ).

С целью описания популяции пациентов с ЛИПП мы собирали демографические данные, уточняли основное заболевание печени у каждого пациента, а также анализировали диагностические критерии хронической болезни печени, обусловленной ЛИПП. Оценивали клинические признаки и симптомы холестаза – желтуху, утомляемость, зуд, а также проявления депрессивного состояния и астенического синдрома – настроение/дисфории (лёгкой, средней и тяжёлой степени), нормализацию ритма сна, улучшение памяти, общее самочувствие. Изучали изменения следующих лабораторных показателей функции печени:

- сывороточный уровень общего билирубина (СОБ),
- сывороточный уровень конъюгированного билирубина (СПБ),
- сывороточный уровень щелочной фосфатазы (ЩФ),
- сывороточный уровень уровня γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП),
- сывороточный уровень показатель аланиновой трансаминазы (АлАТ),
- сывороточный уровень показатель аспарагиновой трансаминазы (АсАТ).

Динамика лабораторных показателей, изменения от начального до последующих этапов были обобщены с указанием:

- исходного среднего значения,
- среднего значения для каждого этапа,
- изменений показателей от исходного среднего значения,
- изменений показателей от стандартного отклонения,
- медианы.

Результаты. Проведён анализ данных 99 пациентов. Структура и частота заболеваний печени в данной популяции: лекарственно-индуцированное поражение печени (ЛИПП) отмечено у 100,0% больных, внутрипеченочный холестаз – 100% наблюдений, холангит – 15,2% случаев, стеатогепатит – 9,1% больных, алиментарно-токсический гепатит – 7,1% больных, хронический гепатит – 5,1% пациентов. Основные показания для терапии Гептралом: ЛИПП вследствие химиотерапии

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

(85,9%), ВПХ у 17 пациентов (17,2%). Средний возраст пациентов – 46,8 года (19–66 лет).

Большую часть изученной популяции пациентов составили женщины – 66,7%; 33,3% – мужчины. Через 6 недель от начала терапии Гептралом клиническое состояние пациентов начинало улучшаться и характеризовалось уменьшением или исчезновением симптомов (желтухи, зуда и утомляемости) холестаза. Снижение всех изученных лабораторных показателей относительно исходного уровня отмечено к 42 дню наблюдения. Статистически значимые изменения были характерны для показателей общего билирубина, АлАТ и АсАТ на 14 и 42 день, а ГГТП – на 14 день от начала терапии гептралом. Отмечена положительная корреляционная зависимость к 14 и 42 дню по сравнению с исходными лабораторными показателями между уровнями:

- общего и конъюгированного билирубина,
- ГГТП и АлАТ,
- ГГТП и АсАТ,
- АлАТ и АсАТ.

На 42 день положительная корреляция была выявлена между показателями:

- общего билирубина и ГГТП,
- конъюгированного билирубина и ГГТП,
- ЩФ и ГГТП.

Заключение. Снижение биохимических показателей, характеризующих синдром холестаза и цитолиза (положительная динамика показателей АлАТ, АсАТ, ЩФ, ГГТП, билирубина), сопровождалось улучшением и нормализацией самочувствия. При оценке депрессивного состояния и астенического синдрома отмечено, что важным моментом является длительность приёма Гептрала. Количество пациентов «без сниженного настроения» увеличилось на 14 (и еще более на 42 день) по сравнению с числом больных до начала приема Гептрала. Продолжительность терапии способствовало уменьшению степени выраженности симптомов депрессии и астенического синдрома, что сопровождалась положительным эмоциональным настроением, исчезновением напряжения, апатии и заторможенности, нормализацией ритма сна или значительным уменьшением дневной сонливости, улучшением памяти. В исследуемой популяции пациентов побочные эффекты при применении Гептрала не отмечены, что свидетельствует о благоприятном профиле безопасности препарата.

Разработка платформы для системно-фармакологического моделирования иммунотерапии в онкологии.

Никитич А. А., Демин О. О., Демин О. В.

Место работы: Институт Системной Биологии, г. Москва

e-mail: nikitich@insysbio.ru

Цель. Иммунотерапия (ИТ) – новый метод лечения онкологических заболеваний, основной принцип которого – активация иммунной системы пациента для борьбы с опухолью. В клинических испытаниях последних лет иммунотерапевтические препараты продемонстрировали высокую эффективность (например, PD-1 и PD-L1 ингибиторы). Обратной стороной успеха, как в любой противоопухолевой терапии, являются побочные эффекты, в данном случае связанные с аутоиммунными реакциями.

Основная сложность разработки ИТ состоит в том, чтобы учесть и понять сложные взаимодействия между различными популяциями иммунных клеток, раковыми клетками, цитокинами, хемокинами и другими участниками иммунного ответа. Главная цель данной работы – создать математический инструмент, который помогает в принятии решений в процессе разработки новых ИТ препаратов и их комбинаций.

Материалы и методы. Разработка платформы для системно-фармакологического моделирования (ПСФМ) ИТ в онкологии осуществляется сотрудниками Института Системной Биологии. ПСФМ представляет собой системно-фармакологическую математическую модель, описывающую взаимодействия между различными типами иммунных, раковых клеток, медиаторами воспаления (цитокины, хемокины), эффекты клеточных контактов через поверхностные молекулы (PD-1: PD-L1, CD40: CD40L и др).

Результаты. Модель была частично откалибрована с использованием следующих типов *in vivo* и *in vitro* данных:

1. активация Т хелперов 1-го, 2-го и 17-го типов, а также регуляторных Т клеток;
2. эффект CD40 лиганда на дендритные и В-клетки;
3. синтез цитокинов иммунными и раковыми клетками;
4. взаимодействие между раковыми клетками и цитотоксическими Т лимфоцитами, NK клетками;
- 5) данные по уровню различных цитокинов в плазме крови;
- 6) созревание, время полужизни и данные о миграции иммунных клеток и др.

Заключение. ПСФМ описывает основные механизмы иммунного ответа, эффект опухоли на иммунную систему и наоборот. ПСФМ может служить математическим инструментом для понимания механизмов действия различных ИТ препаратов и их эффектов, определения предиктивных биомаркеров, оптимизации режимов и комбинаций ИТ препаратов, обнаружения новых мишеней иммунотерапии, разделения пациентов, участвующих в клинических испытаниях на группы по отдельным биомаркерам.

Молекулярно-генетическая оценка уровня экспрессии микроРНК как прогностического фактора чувствительности к неоадьювантной полихимиотерапии у пациенток, страдающих раком молочной железы

Гутковская Е. А., Смолякова Р. М., Шаповал Е. В., Козловская Н. А., Субоч Е. И.

Место работы: РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александрова, г. Минск

e-mail: egutkovskaya87@mail.ru

Цель. Оценка уровня экспрессии микроРНК miR-10b, miR-221, miR-21, miR-451, miR-200c, miR-335, miR-17, miR-34a у пациенток, страдающих РМЖ, в качестве факторов прогноза чувствительности к неоадьювантной полихимиотерапии (НПХТ).

Материалы и методы. Материалом исследования послужили 12 трепан-биоптатов опухоли пациенток, страдающих РМЖ, IIА–IIВ стадии подлежащих комплексному лечению с использованием НПХТ по схеме: доксорубин+циклофосфамид. У всех пациенток диагноз подтвержден морфологически.

Молекулярно-генетическое тестирование проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» на амплификаторе iQ5 (Bio-Rad, США) с использованием набора реагентов производства Invitrogen (США). Оценка

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

экспрессии генов микроРНК проводилась с использованием метода $\Delta\Delta C_t$. Для нормализации использовалась последовательность мРНК RNU1.

Результаты. Средний возраст обследованных пациенток составил $53,5 \pm 8,1$ года. Преобладающим морфологическим вариантом опухоли (75%) являлась протоковая аденокарцинома. В анализируемой группе пациенток преобладала (50%) ІІВ стадия опухолевого процесса и умеренно дифференцированный рак (83,3%). Позитивный статус по рецепторам эпидермального фактора роста Her-2/neu диагностирован у 41,6% пациенток, эстрогенов и прогестерона – в 66,6% наблюдений; частота отрицательных результатов составила 58,4% и 33,4% случаев соответственно. Индекс пролиферативной активности Ki-67 $\geq 10\%$ выявлен у 58,3% пациенток, $\leq 10\%$ – у 41,7%. После проведенного неоадьювантного лечения частичный регресс опухоли наблюдался в 66,7% случаев, стабилизация – в 16,7%. Полный клинический и патоморфологический регресс опухоли отмечен у одной (8,3%) пациентки.

По результатам проведенного молекулярно-генетического тестирования установлено, что уровень экспрессии miR-221 колебался в пределах от 0,16 до 1,26 отн. ед, miR-34a – 0,35 до 5,6 отн. ед, miR-451 – 0,04 до 2,28 отн. ед., miR-200c – 0,5 до 2,1 отн. ед., miR-21 – 0,3 до 2,6 отн. ед., miR-335 – 0,01 до 4,4 отн. ед., miR-17 – 0,16 до 2,59 отн. ед., miR-10b – 0,16 до 1,3 отн. ед.

Умеренная экспрессия miR-221, miR-451 и miR-17 детектирована в 75% случаев, miR-34a и miR-10b – 66,7%, miR-335 – 91,7%, miR-200c и miR-21 – в 100% случаев.

Низкий уровень экспрессии miR-221, miR-451 и miR-17 установлен в 25% случаев, miR-10b – 33,3%, miR-335 – 8,3%. Высокий уровень экспрессии микроРНК miR-34a диагностирован в 33,3% случаев.

Установлено, что частичный (уменьшение $>50\%$ от начального объема опухоли) регресс характерен для пациенток со следующим молекулярно-генетическим фенотипом опухоли: низкая/умеренная экспрессия miR-221 и miR-10b, умеренная экспрессия miR-34a, miR-451, miR-200c, miR-21, miR-335, miR-17. Указанный молекулярно-генетический фенотип опухоли характерен для умеренно дифференцированных форм РМЖ, преимущественно протокового морфотипа (90% случаев) и позитивного статуса по рецепторам эпидермального фактора роста Her-2/neu, эстрогенов и прогестерона (60% случаев). При этом полный регресс опухоли с данным фенотипом отмечен лишь у одной пациентки с трижды-негативным РМЖ.

Заключение. Предварительно полученные данные дают основание предположить о возможности использования молекулярно-генетического фенотипа опухоли: низкая/умеренная экспрессия miR-221 и miR-10b, умеренная экспрессия miR-34a, miR-451, miR-200c, miR-21, miR-335, miR-17 при позитивной по рецепторам эпидермального фактора роста Her-2/neu, эстрогенов и прогестерона протоковой аденокарциноме молочной железы для прогнозирования чувствительности опухоли к неоадьювантной полихимиотерапии по схеме: доксорубин+циклофосфамид. Однако в связи с небольшим объемом выборки, необходимо проведение дальнейших исследований.

Теория эпигенетического канцерогенеза: как взаимосвязанные комплексные сдвиги в некодирующем РНКоме и эпигеноме могут предопределять опухолевый рост

Галицкий В. А.

Место работы: Институт биохимии имени А. В. Палладина НАН Украины, г. Киев

e-mail: volha@biochem.kiev.ua

Цель. Последовательность событий, которая в конечном итоге приводит к опухолевой трансформации клеток, остается не вполне ясной. Традиционная теория канцерогенеза концентрирует внимание на мутациях онкогенов. Тем не менее, для опухолевых клеток характерны глубокие сдвиги в метилировании ДНК, состоянии хроматина, профиле экспрессии некодирующих РНК (в частности, микроРНК).

Данные изменения могут быть первичными – о том, что озлокачествлению клеток предшествует коренная перестройка на эпигенетическом уровне, свидетельствует, например, метаплазия – явление, обычное для предраковых состояний. Целью данного исследования является изучение роли некодирующих РНК в трансформации клеток, установление последовательности событий, которые предопределяют опухолевый рост, и создание единой теории канцерогенеза.

Материалы и методы. Мишени микроРНК в транскриптах генов были определены *in silico* при помощи программного пакета TargetScan.

Результаты. МикроРНК, гиперэкспрессируемые в опухолевых клетках (в частности, miR-18, miR-19, miR-21, miR-29a, miR-155, miR-181, miR-206, miR-210 та miR-221/222), способны вызывать:

1. сайленсинг генов ключевых элементов всех важнейших систем репарации ДНК – эксцизионной репарации – UNG, SMUG1, MBD4, TDG, OGG1, NTHL1 (NTH1), NEIL1/2, APEX1 (APE1), LIG3, APLF (C2ORF13), MSH2/3, MLH1/3, RAD23B, DDB1, RPA1/2, ERCC1/2/4/6/8, GTF2H1/2/3/5, CCNH, UVSSA (KIAA1530), прямой репарации – ALKBH3 (DEPC1), репарации сшивков, вызванных ДНК-топоизомеразой – TDP1/2, репарации путем гомологичной рекомбинации – RAD51, RAD51B/D, XRCC2, RAD52, RAD54B, BRCA1, RAD50, MRE11A, NBN (NBS1) EME1 (MMS4L), GEN1, FANCA/C/E/F/M, BRCA2 (FANCD1), FANCD2, FANCG (XRCC9), FANCI (KIAA1794), BRIP1 (FANCI), RAD51C (FANCO), BTBD12 (SLX4), FAAP20 (C1orf86), ATM и репарации путем негомологичного воссоединения концов – XRCC5 (Ku80), PRKDC, LIG4, DCLRE1C (Artemis), ATM;
2. сайленсинг генов гистон-деацетилаз (HDAC1/2/4/6/7/8/9 и SIRT1/3/5/7), гистон-метилаз (ASH1L, DOT1L, EHMT1/2, EZH1, MLL, MLL2/3/5, NSD1, PRDM2, SET, SETBP1, SETD1A/B, SETD2/3/5/6/7/8, SETDB1/2, SMYD1/2/4/5, SUV39H1/2 и SUV420H1/2), а также *de novo* ДНК-метилаз (DNMT3A, DNMT3B и DNMT3L);
3. сайленсинг генов ингибиторов клеточного цикла (p27, p57, p130), а также сайленсинг генов-супрессоров опухолевого роста (pTEN, TGFBR) и проапоптозных генов (TP53, FAS, Bak1);
4. сайленсинг генов молекул межклеточной адгезии – элементов тесных замыкающих контактов (клаудины, окклюдин, ZO1/2, JAM-A/C), адгезивных контактов (Е-кадгерин, нектин 1), щелевых контактов (коннексин 43), а также связанных с ними компонентов цитоскелета (цингулин, винку-

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

лин, тропомиозин 1, α -актинины) и элементов сигнальных каскадов, отвечающих за контактное торможение, а также белков, предопределяющих апикально-базальную поляризацию и правильную ориентацию митотического веретена; 5. сайленсинг генов белков ядерной ламины и белков, отвечающих за связь ламины и цитоскелета – LEMD3 (MAN1), LBR, SUN1/2; 6) высвобождение экспрессии генов факторов, отвечающих за стволовой статус клетки (Nanog, Oct4, Sox2, Klf4) от угнетающего влияния фактора p53 и сигнала от рецептора онкостатина М.

Свойственное опухолевым клеткам угнетение экспрессии других микроРНК (обычно, miR-15/16, miR-122, miR-125a/b, miR-31, miR-143, miR-145, miR-204, miR-205 и miR-320) снимает репрессивное влияние этих микроРНК на экспрессию:

1. генов гистон-ацетилаз (PCAF, ELP3, ATF2, MOZ, MORF, TIP60, HBO1), гистон-деметилаз (KDM1A/B, KDM2/B, KDM3A, KDM4A/B/C и KDM5A/C/D), а также компонентов хроматин-ремоделлирующего комплекса SWI/SNF (ARID1A/B, SMARCC2, SMARCD1/2 и ACTL6A);
2. генов компонентов сигнальных каскадов, отвечающих за пролиферацию клеток (E2F, CDK6, RAS1/2, erbB2/3/4, abl2, STAT3) и антиапоптозных генов (bcl-2);
3. генов гетероорганных антигенов (для эпителиальной ткани такими являются, в частности, ламинины, виментин, фибронектин);
4. генов белков, отвечающих за клеточную подвижность (β -актин, γ 1-актин, талин), а также за закрепление клеток в ненадлежащей ткани (β 5-интегрин);
5. генов компонентов ядерных пор и генов белков, отвечающих за ядерный транспорт; 6) генов факторов, отвечающих за стволовой статус клеток – Tcf3, Nanog, Sox2, Klf4, POU5F1 (Oct4).

Заключение. Изменение профиля экспрессии некодирующих РНК способно создать условия для трансформации клетки. При этом можно условно выделить следующие основные этапы трансформации клетки.

На первом этапе гиперэкспрессия некоторых РНК (вызванная, например, воспалительным процессом) предопределяет снижение уровня метилирования ДНК и гистонов, а также возрастание уровня ацетилирования последних, что приводит к повышению общего уровня экспрессии хроматина и тотальной переинсталляции эпигенетических маркеров. Кроме того, становится возможной реактивация транспозонов, которая ведет к нестабильности генома. Одновременно из-за нарушения нормального функционирования систем репарации ДНК, возрастает количество нерепарированных мутаций клеточной ДНК. Также происходит ослабление межклеточных контактов и снижение активности сигнальных каскадов, отвечающих за контактное торможение, а сайленсинг проапоптозных генов увеличивает резистентность к апоптозу и апоптозу.

На втором этапе происходит снижение активности генов некодирующих РНК, препятствующих трансформации клетки. Возможно, их сайленсинг вызван гиперэкспрессируемыми некодирующими РНК, или же является следствием глобальной перестройки эпигенома. Также гены некодирующих РНК, препятствующих трансформации клетки, могут подвергаться и повреждению, чему способствует нарушение репарации ДНК и реактивация транспозонов. Более того, существует возможность, что данные гены подвергаются целенаправленному повреждению (эндогенный генный нокаут) из-за того, что одноцепочечная ДНК гораздо сильнее предрасположена

к повреждениям, чем двухцепочечная. Во-первых, ДНК активных генов чаще бывает в расплетенном состоянии – в участке транскрипции синтезируемая РНК комплементарно связана с одной из цепей ДНК, тогда как вторая цепь ДНК находится в форме одноцепочечной R-петли.

Во-вторых, если гены опухолевых супрессоров подвергаются транскрипционному сайленсингу, осуществляемому при помощи РНК-зависимого метилирования ДНК, R-петли будут возникать из-за того, что некодирующие РНК, связываясь с комплементарной последовательностью одной из цепей ДНК, вытесняют вторую цепь. В итоге, сайленсинг или повреждение генов некодирующих РНК, препятствующих трансформации, приводит к дальнейшему снятию маркеров репрессии и установлению маркеров активности хроматина, проявлению или повышению активности генов, кодирующих гетероорганные антигены, а также генов (в т.ч. онкогенов), отвечающих за пролиферацию и выживание клетки, ее подвижность.

Третий этап канцерогенеза – приобретение трансформирующимися клетками свойств стволовых. Условия для реактивации генов факторов стволовых клеток создаются во время предыдущих этапов, а следствием является возможность трансформирующихся клеток формировать самоподдерживающиеся клоны вне первичной опухоли (метастазы). Сайленсинг генов, отвечающих за межклеточную адгезию, апикально-базальную поляриность и ориентацию митотического веретена, наряду с экспрессией генов гетероорганных антигенов, являясь эпигенетической основой эпителиально-мезенхимального перехода трансформирующихся клеток, тоже, очевидно, способствует приобретению ими стволового статуса.

Четвертый этап – мутация онкогенов, которой способствует дерепрессия транспозонов и нарушение репарации ДНК во время предыдущих этапов. Данное событие лишь закрепляет роль того или иного онкогена в трансформации клетки, уже приобретенную эпигенетически. Поэтому мутацию онкогенов можно рассматривать как событие из числа тех, что приводят к большей устойчивости или агрессивности опухолевого роста и составляют суть опухолевой прогрессии. Необходимо отметить, что мутация онкогенов не является обязательным условием для успешного канцерогенеза.

Опыт использования высокопроизводительного секвенирования (NGS) для подбора таргетной терапии при немелкоклеточном раке легкого: преимущества и ограничения

Иванов М. В.¹, Новикова Е. И.², Баранова А. В.³, Милейко В. А.⁴

Место работы: 1. ИХБФМ СО РАН; 2. РНЦПР; 3. МГНЦ РАМН; 4. Геномный центр «Ридсенс»

e-mail: vlad.mileyko@ya.ru

Цель исследования. Молекулярно-генетическое исследование спектра клинически-значимых мутаций в драйверных генах у пациентов с немелкоклеточным раком легкого с использованием методов секвенирования нового поколения.

Материалы и методы. Исследованы образцы послеоперационного материала 25 пациентов НМРЛ со стадией опухолевого процесса III–IV. После выделения ДНК из парафинизированных блоков, были приготовлены таргетные ДНК-библиотеки с помощью панели Truseq Amplicon Cancer (Illumina). Секве-

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

нирование выполняли на платформе Miseq (Illumina) парно-концевыми чтениями по 150 нуклеотидов. Для анализа данных секвенирования и поиска мутаций использовали VariantCaller v2.1 (Illumina) и GATK (Broad Institute).

Результаты. В результате секвенирования получены данные со средним покрытием не менее 2000х, что позволило анализировать даже малопредставленные мутации. Всего клинически значимые мутации обнаружены у 13 пациентов. В том числе, у 8 пациентов из 25 (32%) обнаружены активирующие мутации EGFR. При этом, у одного пациента обнаружена вставка в 19 экзоне 2214_2215insTAAATTCCTCGCTA TC, ранее не описанная в публично доступных базах данных (COSMIC).

Анализ литературы свидетельствует о том, что вставка 6 аминокислот в 19 экзоне свидетельствует об увеличении активного димерного комплекса и повышении эффективности ингибиторов TK EGFR. Следует отметить, что эта мутация не была детектирована с помощью стандартного ПО Illumina Somatic Variant Caller, ввиду того, что она находится на краю чтения и приводит к некорректному выравниванию. Однако, обнаружить мутацию удалось благодаря локальному перевыравниванию последовательности алгоритмом GATK.

В то же время, среди пациентов с мутациями EGFR у одного пациента выявлена вторичная мутация T790M, еще у одного пациента обнаружена вставка в 20 экзоне EGFR, у других 5 пациентов обнаружены мутации гена KRAS и у одного пациента обнаружена мутация гена PIK3CA. Таким образом, следует ожидать низкую эффективность или резистентность (в случае с T790M) терапии TKI у 8 пациентов.

Кроме того, у одного пациента вместе с активирующей мутацией G719V в 18 экзоне в этом же гаплотипе обнаружена мутация, приводящая к сдвигу рамки считывания в 717 кодоне, что свидетельствует о снижении киназной активности EGFR. В этом случае детекция отдельно мутации в 719 кодоне могла бы ложно свидетельствовать о предположительной эффективности ингибиторов тирозин-киназы EGFR.

Заключение. Определение мутаций методом высокопроизводительного секвенирования позволяет дополнительно выявлять редкие мутации чувствительности к ингибиторам EGFR, а также исключать ложно-положительные результаты, характерные для ПЦР. При этом, следует отметить, что для корректной интерпретации данных секвенирования недостаточно использовать программное обеспечение производителя и может потребоваться более сложный биоинформатический анализ с использованием различных алгоритмов поиска мутаций и выравнивания последовательностей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках проекта RFMEFI60714X0098.

Экспрессия раково-тестикулярных генов наблюдается при раке молочной железы

Мисюрин В.А.¹, Мисюрин А.В.¹, Кесаева Л.А.¹, Финашуткина Ю.П.¹, Чхиквадзе Н.В.¹, Воротников И.К.¹

Место работы: 1. ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, г. Москва

e-mail: vsevolod.misyurin@gmail.com

Цель. В мировой литературе имеются данные о негативном влиянии активных раково-тестикулярных генов (РТГ) на прогноз у больных раком молочной железы. Нашей целью было собрать данные об экспрессии РТГ GAGE1, HAGE, NY-ESO-1,

MAGEA1, PASD1, SCP1, SEMG1, SLLP1, SPANXA1, SSX1 и PRAME в первичном опухолевом очаге больных раком молочной железы.

Материалы и методы. Тотальная РНК была выделена из биопсированной опухоли у 14 первичных больных раком молочной железы. Оценка уровня экспрессии мРНК РТГ GAGE1, HAGE, NY-ESO-1, MAGEA1, PASD1, SCP1, SEMG1, SPANXA1, SSX1 и PRAME проводилась методом RQ-PCR с использованием систем специфических праймеров и зондов. Ген Abl использовался в качестве контрольного.

Результаты. Экспрессия РТГ GAGE1 наблюдалась у 2 из 14 больных со среднемедианным уровнем 0,2% относительно Abl. Активность HAGE наблюдалась у 14/14 больных на уровне 0,1% (разброс значений от 0,01% до 606%). Ген NY-ESO-1 экспрессировался у 3/14 на уровне 0,03% (0,02–13%). Ген MAGEA1 экспрессировался у 3/14 на уровне 0,8% (0,06–62%). Экспрессия SEMG1 отмечена у одного больного на уровне 0,001%. Экспрессия SPANXA1 отмечена у одного больного на уровне 0,02%.

Экспрессия PRAME отмечена у 5/14 больных на уровне 9,47% (0,02–200%). У одного из больных в опухоли наблюдалась коэкспрессия генов GAGE1, HAGE, NY-ESO-1, MAGEA1 и PRAME; у другого больного коэкспрессировались РТГ GAGE1, HAGE, SEMG1 и PRAME; у третьего больного наблюдалась коэкспрессия генов HAGE, NY-ESO-1 и PRAME. У шестерых больных наблюдалась коэкспрессия двух РТГ. В двух случаях наблюдалась экспрессия HAGE и MAGEA1; в двух других случаях экспрессировались гены HAGE и PRAME; в одном случае – HAGE и SPANXA1, и в одном случае – HAGE и NY-ESO-1. У пяти больных наблюдалась экспрессия гена HAGE. Активности генов PASD1, SCP1 и SSX1 не выявлено.

Заключение. При раке молочной железы у одного больного возможна экспрессия множества РТГ. Впервые в мире показано, что у больных раком молочной железы может наблюдаться экспрессия генов GAGE1, HAGE, NY-ESO-1, MAGEA1 и PRAME одновременно. Собранные нами данные позволяют инициировать новое исследование, посвященное выявлению прогностического значения активности РТГ у больных раком молочной железы.

Полиморфизм Ile655Val HER2 ассоциирован с -238(G>A)TNF у больных РМЖ

Маливанова Т. Ф., Алферова Е. В., Мазуренко Н. Н.

Место работы: ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, г. Москва

e-mail: tmalivanova@yandex.ru

Цель работы. Взаимодействие функциональных полиморфизмов низкопенетрантных генов может играть важную роль в патогенезе различных, в том числе онкологических, заболеваний. Редкие аллели А в полиморфизмах 238(G/A)TNF и -308(G/A)TNF в промоторе гена TNF соответственно снижают и повышают продукцию цитокина, который является индуктором как пролиферации, так и апоптоза, в зависимости от физиологического контекста.

Полиморфизм Ile655Val HER2 влияет на эффективность димеризации и тирозин-киназной активности Her2/neu, приводящей к клеточной трансформации. Представлялось важным изучить возможность взаимодействия полиморфизмов, оказывающих влияние на продукцию белка TNF, и полиморфизма белка HER2 у больных РМЖ.

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

Материалы и методы. В работе исследовали геномную ДНК от 213 больных РМЖ и 66 женщин из группы клинического контроля. Для определения полиморфизмов –308(G/A) TNF, –238(G/A) TNF и Ile655Val HER2 использовали методы сайт-специфической ПЦР и ПЦР-ПДРФ. В статистическом анализе использовали точный критерий Фишера.

Результаты. Редкий аллель –238(A) TNF был обнаружен у 8,5% больных РМЖ и у 6,1% женщин контрольной группы; аллель –308(A) TNF – у 29,1% больных РМЖ и 21,2% в контрольной группе; аллель 655Val HER2 – у 40,4% больных РМЖ и 36,4% в контрольной группе ($p > 0,05$). По результатам эксперимента были выделены группы носителей комбинированных генотипов –238/-308 TNF, которые: 1) содержали аллель –238(A) TNF, 2) содержали аллель –308(A) TNF, 3) не имели таких аллелей.

Установлено, что больные РМЖ имеющие аллель –238(A) TNF (группа 1) в 73,3% случаев содержали аллель 655Val HER2, что достоверно отличает их от носителей генотипов 2 и 3, как больных РМЖ, так и женщин контрольной группы, у которых аллель 655ValHER2 присутствовал в 28,8–41,9% случаев ($p < 0,02$). Важно отметить, что носительство аллеля 655ValHER2 не коррелировало с гиперэкспрессией белка Her2.

Заключение. Впервые обнаружена ассоциация Ile655Val HER2 с полиморфизмом –238(G>A) TNF у больных РМЖ, биологический смысл которой предстоит изучить в дальнейшем.

Транскриптомный и геномный анализ для установления ключевых причин изменений функционирования канонических сигнальных и метаболических путей на примере светлоклеточной почечно-клеточной карциномы

Солодских С.А.¹, Паневина А.В.¹, Башмаков В.Ю.¹, Горбачева Т.М.¹, Ащеулов А.Ю.³, Михайлов А.А.², Мошуров И.П.², Маслов А.Ю.¹, Попов В.Н.¹

Место работы: 1. ФГБОУ ВПО «Воронежский Государственный Университет», г. Воронеж, Россия; 2. БУЗ ВО «Воронежский областной клинический онкологический диспансер»; 3. АНО «Научно-исследовательский институт постгеномных технологий»

e-mail: solodskikh@bio.vsu.ru

Почечно-клеточный рак (ПКР) – рак почки, представляющий собой злокачественное образование проксимальных почечных канальцев. ПКР – наиболее распространенный вид рака почек у взрослых, встречающийся в 80% случаев. Является основной причиной смертности при раке выделительной системы. Наиболее популярное и эффективное лечение – частичная или полная нефрэктомия. Пятилетняя выживаемость при паренхиматозном происхождении опухоли составляет 60–70%, однако при возникновении метастазов выживаемость значительно снижается. Опухоль относительно резистентна к лучевой терапии и химиотерапии, но в некоторых случаях отвечает на иммунотерапию.

Таргетные препараты (сунитиниб, бевацизумаб, α -интерферон, сорафениб) оказывают существенное влияние на ПКР. Наиболее релевантными причинами развития ПКР являются курение, ожирение и артериальная гипертензия (около 50% случаев). Предположительно, фактором риска также может быть воздействие асбеста, кадмия, свинца, соединений хлора,

полициклических ароматических углеводородов, нестероидных противовоспалительных препаратов. Также ПКР развивается в 2 раза чаще у женщин, перенесших гистерэктомию. Полный спектр мутаций характерный для данного вида рака изучен недостаточно. Также в дополнительном изучении нуждаются метаболические и сигнальные пути, задействованные в развитии ПКР, эпигенетические факторы развития заболевания и профили экспрессии в различных видах рака.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись 25 пациентов Воронежского областного клинического онкологического диспансера в возрасте от 57 до 75 лет с гистологически подтвержденным светлоклеточным ПКР. РНК из образцов выделяли набором реактивов RNeasy® Mini kit (QIAGEN, США) согласно инструкции производителя. Качество материала оценивали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле, концентрацию измеряли на флуориметре Qubit® 2.0 (Life Technologies, США).

Пробоподготовку для последующей гибридизацией с ДНК-микрочипами осуществляли с использованием комплекта реактивов Ambion® WT Expression Kit (Life Technologies, США). В данном исследовании использовались ДНК-микрочипы Affymetrix® Human Gene ST 1.1 и система анализа Affymetrix® GeneAtlas®. Секвенирование ДНК проводилось на платформе In Torrent PGM (Life Technologies, США) с панелью праймеров Comprehensive Cancer Panel. Для анализа данных использовалось ПО Partek Genomics Suite v6.6, Ion Torrent Suite v.4.6 и БД Ingenuity Pathway Analysis.

Рассматривались только те мутации, которые приводят к замене аминокислот в соответствующем белке, сдвигу рамки считывания или формированию урезанного транскрипта.

Результаты исследования и их обсуждение: Анализ методом главных компонент выявил 2 кластера, образованных данными опухолевых и нормальных тканей. Целевое ресеквенирование ДНК выявило 36 мутаций в опухолевых тканях пациентов, не содержащихся в ДНК нормальной ткани. 19 из них были локализованы в генах в SDHB, TRIM33, PDE4DIP, PBX1, ABL2, MTR, VHL, ROS1, PRKDC, CSMD3, MLLT10, TRIP11, PER1 и BCL2 и являлись опухолеспецифичными. 17 мутаций были обнаружены в промоторных зонах генов EGFR, PDGFRA и HNF1A. Экспрессия 3528 генов в опухолевых тканях была изменена более чем в 2 раза с уровнем значимости $p < 0.05$ с поправкой на среднюю долю ложных отклонений. При этом экспрессия 196 генов отличалась более чем в 10 раз. Наибольшее снижение экспрессии было характерно для генов CALB1 (–187), HPD (–133.4), KNG1 (–127), SLC36A2 (–126.7), PAH (–122), SLC22A8 (–119), SLC12A1 (–109.8), UMOD (–95.7), SLC12A3 (–92.5), SLC34A1 (–80.65), XPNPEP2 (–77.8), CLDN8 (–76.4), PLG (–74.9), DIO1 (–72.1), SLC22A6 (–69.9), NPHS2 (–62.9), SLC13A3 (–60.3).

Экспрессия следующих генов была увеличена: TNFAIP6 (34.6), ANGPTL4 (24.3), ANGPT2 (23.4), SERPINE1 (22.7), CP (20.7), HILPDA (20.2), VCAN (18.35), IDO1 (17.8), VWF (16.6), C3 (15.45), COL1A1 (14.2), LOXL2 (13.7), OLFML2B (13.3), ITGA5 (12.7), LAMA4 (12.6).

Мутации ДНК и профили экспрессии анализировались в составе одной выборки для определения взаимосвязей между мутациями и изменениями экспрессии отдельных генов, и установления влияния значащих мутаций на функционирование канонических сигнальных путей в клетке.

Наиболее репрезентативными по проценту представленных генов метаболическими путями из базы данных Ingenuity ока-

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

зались «FXR/RXR Activation», «Atherosclerosis Signaling», «LXR/RXR Activation», «Production of NO and ROS in Macrophages», «Cell migration and adhesion».

Анализ мотивов связывания факторов транскрипции в промоторных зонах генов с дифференциальной экспрессией показал, что факторами транскрипции, обуславливающими наблюдаемые изменения экспрессии, являются PPAR- α , PPAR- γ , p53, TNF-1 α , FOXC2, SGK1, NR0B2, HNF1- α , HNF1- β и HNF4- α .

Заключение. Были проанализированы профили экспрессии и мутационные ландшафты 25 пар опухоль-норма пациентов с гистологически подтвержденным светлоклеточным ПКР. Выявлена дифференциальная экспрессия ряда генов с уровнем значимости $p < 0,05$. Установлена принадлежность полученных генов к каноническим метаболическим и сигнальным путям.

Разработанный метод интеграции геномных и транскриптомных данных позволяет определять причины варибельности уровней мРНК. Ряд мутаций и генов с измененной экспрессией, обнаруженные в этом исследовании, не содержатся в публичных базах данных аннотированных мутаций, что позволяет сделать вывод о популяционной гетерогенности в ряде случаев ПКР. Обнаруженные мутации и экспрессионные профили могут использоваться как биомаркеры и иметь применение в клинической практике.

Исследование поддержано грантом Министерства образования и науки Российской Федерации No 14.547.21.0027 (уникальный идентификатор проекта RFMEFI57414X0027).

TLRs – опосредованный хемотаксис опухолевых клеток

Филина А. Б.¹, Свитич О.А.¹, Ганковская Л.В.², Лабжонов П.А.¹, Зверев В.В.¹

Место работы: 1. ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова», г. Москва; 2. ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г. Москва

e-mail: byzonka@yandex.ru

Одним из последних открытий в иммунологии считается открытие распознающих структур врожденного иммунитета – Toll – подобных рецепторов (TLRs), которое перевернуло представление о механизмах и специфичности врожденного иммунитета. В последние годы была доказана не только роль хемокинов и хемокиновых рецепторов, но и TLRs в онкогенезе. Активация распознающих структур врожденного иммунитета напрямую связано с активацией воспалительных реакций (через выработку провоспалительных цитокинов) и опосредованно – с развитием онкологии.

До сих пор не до конца изучены все причины вышеописанных взаимосвязей. Следовательно, целью данного исследования является изучение миграции опухолевых клеток на примере лиганд – опосредованного хемотаксиса клеток макрофагальной линии U937, а также изучение взаимосвязи между активацией Toll-подобных рецепторов, активностью опухолевых клеток и их хемотаксисом.

Материалы и методы. Исследуемый материал – опухолевые клетки – культура клеток линии U937 (моноцитарные клетки, полученные из гистиоцитарной лимфомы). В качестве контроля использовались моноцитарные клетки, полученные от доноров, не имеющих онкологических заболеваний и заболеваний иммунной системы.

Для изучения хемотаксиса клеток использовались следующие Методы. хемотаксис in vitro в камере Бойдена; подсчет

клеток в камере Горяева. Для исследования хемотаксиса in vitro использовалась камера Бойдена фирмы BD Falcon TM HTS FluoroBlokTM 96-Multiwell Insert System (BD Biosciences, США). В верхний отсек камеры помещалась взвесь клеток линии U937 в объеме 30 мкл и количестве $60 \pm 1 \cdot 10^3$. В нижний отсек камеры вносили хемоаттрактант (лиганд) в объеме 250 мкл в концентрации 10мкг/1мл.

Агентами для хемотаксиса были: TNF – α («eBioscience», Австрия); DNA_lig (ccg-gtc-cac-aag-ggg-ggc-ca) и RNA_lig (ccg-agg-aug-cga-ggc-uug-uu), последовательности которых аналогичны последовательностям вирусов из базы данных GeneBank. В качестве контроля использовали среду RPMI – 1640 без глутамин (ПанЭко, РФ). Подсчет клеток проводился в камере Горяева.

Выделение РНК из клеток проводилось с помощью набора «РИБО-сорб» (ИЛС, РФ), далее проводили реакцию обратной транскрипции с помощью «Набора реагентов ОТ-1» (ИЛС, РФ) и ПЦР-ПВ («Набор реагентов с SYBR Green1», «Синтол», РФ) на амплификаторе PicoReal («Thermo Scientific»). Реакционная смесь для ПЦР – ПВ содержала 18 мкл: 10 пкмоль/мкл праймера (1мкл); 20 Мм MgCl2 (2 мкл); 2 мкл 10х ПЦР буфера Б; 2 мМ dNTP (2 мкл); 10 мкл H2O; 0,5 Е/мкл ДНК-полимеразы (0,3 мкл); 3 мкл образца. ПЦР проводилась по программе 94о С – 5 мин, (60о С – 40сек, 94о С – 40 сек) 40 циклов. Синтетические лиганды и праймеры для ПЦР были синтезированы на фирме «Синтол» (РФ).

Статистический анализ проводили с использованием компьютерной статистической программой BioStat, а также программы Excel. В связи с разным числом наблюдений в каждой из групп для оценки статистической достоверности различий в количестве мигрировавших клеток, в уровнях экспрессии генов TLRs, генов хемоаттрактантов и их рецепторов использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Для исследования корреляции между уровнями экспрессии генов хемоаттрактантов и их рецепторов использовалось вычисление непараметрического коэффициента Спирмена.

Результаты. Был выявлен рост миграции к агентам DNA_lig, RNA_lig и TNF- α . Экспрессия TLR2, TLR7 и TLR9 в мигрирующих клетках значительно увеличилась под воздействием TNF – α в 1,5, 4 и 19 раз, соответственно. Под воздействием DNA_lig увеличилась экспрессия TLR9 в 105 и TLR3 – в 2 раза. При воздействии RNA_lig экспрессия TLR3 увеличилась в 3 раза. Экспрессия CCR4 увеличивается в 1,5 и 2 раза под действием DNA_lig и RNA_lig, соответственно, в сравнении с интактными клетками. Экспрессия CXCL12 увеличивается под действием DNA_lig в 30 раз. Экспрессия EGFR в опухолевых клетках превышает норму в 1.5–2 раза. Был проведен анализ по выявлению корреляции между исследуемыми показателями и обнаружена значимая корреляция между уровнем экспрессии CXCL12 и CCR4 с помощью вычисления коэффициента Спирмена ($s = 0,945$; $p = 0,001$).

Заключение. В данной работе были взяты такие агенты, которые являлись только лишь лигандами TLRs: DNA_lig и RNA_lig. Но, исходя из полученных нами результатов, можно в первую очередь сказать, что помимо роста экспрессии TLR3 и TLR9 под воздействием RNA_lig и DNA_lig, происходил рост миграции, экспрессии CCR4 и CXCL12.

При этом миграция опухолевых клеток увеличивается под действием DNA_lig и RNA_lig почти так же, как и под действием TNF – α . Соответственно можно говорить о том, что активация TLRs, в особенности TLR3 и TLR9, опосредованно

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

ведет к изменению хемотаксиса и его компонентов в опухолевой клетке почти на том же уровне, что и при активации экспрессии провоспалительных агентов.

Таким образом, нами была показана прямая зависимость между активацией TLRs в опухолевых клетках и их хемотаксисом, экспрессией хемоаттрактантов, их рецепторов. В перспективе планируется расширить спектр изучаемых факторов, влияющих на миграцию и активацию опухолевых клеток. Полученные данные могут использоваться с целью снижения хемотаксиса опухолевых клеток, а так же их активности.

Сывороточные уровни тимидинкиназы-1, β 2-микроглобулина и лактатдегидрогеназы у больных неходжкинскими лимфомами (НХЛ) и лимфогранулематозом (ЛГМ) как факторы прогноза эффективности химиотерапии

Парилова Н. К., Сергеева Н. С., Маршуткина Н. В., Тюрина Н. Г.
Место работы: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России (генеральный директор – член-корр. РАН, проф. А.Д. Каприн) Россия, г. Москва.
e-mail: prognos.06@mail.ru

Использование серологических опухолевых маркеров (ОМ) – β 2-микроглобулина (β 2-МГ) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) у больных с лимфопролиферативными заболеваниями (ЛПЗ) в мониторинге химиотерапии (ХТ) ограничено их недостаточной чувствительностью и специфичностью. С этих позиций, поиски надежного ОМ, уровень которого мог бы отражать динамику опухолевого процесса на этапах ХТ и прогнозировать ее эффективность, остается актуальным. Перспективной в этом отношении представляется тимидинкиназа-1 (ТК-1), активность которой, как было показано нами ранее, у больных НХЛ и ЛГМ до лечения коррелирует со стадией и степенью агрессивности опухолевого процесса.

Цель исследования. Оценить прогностическую (клиническую) значимость исходных уровней ТК-1 и их изменения в мониторинге ХТ (в сравнении с β 2-МГ и ЛДГ) у больных НХЛ и ЛГМ, в сопоставлении с достигнутым клиническим эффектом.

Материалы и методы. Уровни ТК-1, β 2-МГ и ЛДГ измеряли у 95 больных ЛПЗ (61 – НХЛ и 34 – ЛГМ) до начала лечения и перед каждым последующим курсом ХТ. Результаты сопоставили с достигнутым клиническим эффектом лечения: 20 случаев полной ремиссии (ПР), 58 – частичной ремиссии (ЧР) и 17 – отсутствия клинически значимого эффекта лечения (ОКЗЭЛ). Определение активности ТК-1 проводили ELYSA методом на коммерческих наборах («BIOVICA», Швеция), β 2-МГ методом иммунотурбидиметрии на анализаторе AU680 («Beckman Coulter», США), ЛДГ биохимическим методом на анализаторе ILab-650 (Shimadzu, Япония). Использовали следующие дискриминационные уровни маркеров: 50,0 Дед/л – для ТК-1, 800,0–2400,0 мкг/л – для β 2-МГ и 225,0–450,0 Ед/л – для ЛДГ.

Результаты. В группе больных ЛПЗ с ПР и ЧР средние исходные уровни ТК-1 и β 2-МГ и ЛДГ оказались достоверно более низкими (336,9 Дед/л, 2346,2 мкг/л и 446,0 Ед/л соответственно), чем в группе ОКЗЭЛ (834,6 Дед/л, 3528,2 мкг/л и 646,1 Ед/л соответственно), $p \leq 0,001$.

При этом, значения ТК-1 и β 2-МГ, превышающие уровни 150,0 Дед/л для ТК-1 и 2200,0 мкг/л для β 2-МГ, установлены у 100,0% и 94,1% пациентов с ОКЗЭЛ (соответственно), и только у 30,0% и 30,0% – с ПР, и у 60,3% и 55,2% – с ЧР (со-

ответственно). Большая часть больных, имевших на старте лечения уровни ТК-1 и/или β 2-МГ ниже пороговых, достигала ПР (85,0%) или ЧР (63,8%).

Было установлено, что возрастание активности ТК-1 после 1-го курса ХТ более чем в 4 раза относительно исходного уровня ассоциировано с достижением ПР или ЧР после завершения 6–8 курсов ХТ. Для β 2-МГ и ЛДГ не было выявлено значимой связи между изменением их концентраций в СК в процессе ХТ и ее эффективностью. Средние значения активности ТК-1 после 6–8 курсов ХТ при ПР не отличались от исходных (375,0 vs 485,3 Дед/л, $p=0,73$), а при ЧР и ОКЗЭЛ – возрастали (323,7 vs 1524,7 ($p<0,001$) и 834,6 vs 1472,6 Дед/л ($p=0,11$) соответственно).

Заключение. Выявлена корреляция исходных уровней ТК-1, β 2-МГ и ЛДГ с клиническим эффектом ХТ у больных ЛПЗ: при более низких исходных значениях – больше вероятность достижения ПР или ЧР. Уровни ТК-1 $<150,0$ Дед/л и β 2-МГ $<2200,0$ мкг/л у первичных больных ЛПЗ могут служить факторами прогноза эффективности ХТ (высокой вероятности достижения ПР или ЧР).

Возрастание активности ТК-1 после 1-го курса ХТ у пациентов с ЛПЗ более чем в 4 раза относительно исходного уровня прогнозирует ее эффективность – достижение ПР или ЧР. Для β 2-МГ и ЛДГ не установлено значимой связи между изменением их концентраций в СК в процессе ХТ и ее эффективностью. В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что ТК-1 можно рассматривать в качестве маркера ЛПЗ, пригодного для прогноза эффективности ХТ.

Клиническое значение промежуточной ПЭТ (ПЭТ-2) при лечении распространенных стадий лимфомы Ходжкина по интенсивной программе EACOPP-14

Леонтьева А. А.¹, Демина Е. А.¹, Рябухина Ю. Е.¹, Тумян Г. С.¹, Трофимова О. П.¹, Сотников В. М.², Ларионова В. Б.¹, Парамонова Е. В.¹, Манзюк Л. В.¹, Мухоморова О. В.³, Асланиди И. П.³, Зайцева А. Ю.⁴, Радкевич Л. А.⁴, Рудас М. С.⁵, Манукова В. А.⁵, Османов. Е. А.¹

Место работы: 1. ФГБУ «РОНЦ им.Н.Н.Блохина» МЗ РФ, г. Москва; 2. ФГБУ РНЦРР МЗ РФ, г. Москва; 3. ФГБУ НЦС-СХ им.А.Н.Бакулева МЗ РФ, г. Москва; 4. ФГБУ «Клиническая больница № 1 УД Президента РФ», г. Москва; 5. ФГБУ «ЦКБ с поликлиникой УД Президента РФ», г. Москва

Исследование A. Gallamini и M. Hutchings (2007) показало высокое прогностическое значение ПЭТ, выполненной после 2 циклов полихимиотерапии по схеме ABVD у больных с распространенными стадиями лимфомы Ходжкина (ЛХ): 2-летняя выживаемость без прогрессирования (2-ВБП) составила соответственно 95,0% против 12,8% ($p<0,0001$) при отрицательных и положительных результатах ПЭТ-2. Интенсификация терапии после получения положительных результатов ПЭТ-2 по данным A. Gallamini (2010) и исследовательской группы SWOG (2014) увеличивает 2-ВБП до 60–62%. Более того, исследование Германской группы по изучению ЛХ (GHSG, P. Borchmann 2014), показало, что начало лечения с интенсивной терапии по схеме BEACOPPэскалированный и продолжение её после получения положительных результатов ПЭТ-2 позволяет достичь 90% 2-ВБП.

Цель. Оценить клиническое значение промежуточной ПЭТ при лечении распространенных стадий ЛХ по интенсивной

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

программе EACOPP-14.

Материалы и методы. Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с [18]-фтор-2-дезоксид-Д-глюкозой (FDG) на различных этапах лечения была выполнена 61 больному с распространенными стадиями лимфомы Ходжкина, получавшим лечение в ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» по программе циклов EACOPP-14 (этопозид, адрибластин, циклофосфан, винкристин, натулан, преднизолон) ±ЛТ (30–36Гр) – протокол ЛХМосква1–3 – с декабря 2009 г. по декабрь 2013 г. Медиана наблюдения составила 38 мес. ПЭТ-исследования выполнялись в различных ПЭТ-центрах разных городов России на различных ПЭТ-сканерах и больными в РОНЦ предоставлялись только заключения специалистов по ПЭТ-диагностике. Поэтому был проведен только клинический анализ непосредственных и отдаленных результатов лечения в соответствии с представленными заключениями специалистов по ПЭТ-диагностике без ревизии данных ПЭТ. Негативными результатами ПЭТ считались заключения, в которых специалистом по ПЭТ-диагностике однозначно делался вывод об отсутствии метаболической активности во всех зонах исходного поражения, выявленного по результатам ПЭТ и/или КТ до начала лечения. Заключения, в которых отмечалось только снижение интенсивности накопления FDG или её уровень оставался высоким считались ПЭТ позитивными.

Результаты. ПЭТ-2 была выполнена у 36 больных и оказалась негативной у 25 (69,4%), позитивной – у 11 (30,6%) больных. Четырехлетняя ВБП в группе с негативными результатами промежуточной ПЭТ (25 больных) составила 100%, а в группе больных с накоплением FDG (11 больных) оказалась несколько хуже – 81,8%, $p=0,032$ – рис. 1.

Заключение. Небольшая численность групп, позволяет сделать лишь предварительные выводы о прогностической значимости промежуточной ПЭТ у больных с распространенными стадиями лимфомы Ходжкина, получивших интенсивную химиотерапию первой линии по схеме EACOPP-14. Однако соответствие результатов данным GHSG (P. Borchmann, 2014) полученным при интенсивном лечении большой группы больных ЛХ, подтверждает преимущество ранней интенсификации терапии для больных с распространенными стадиями ЛХ.

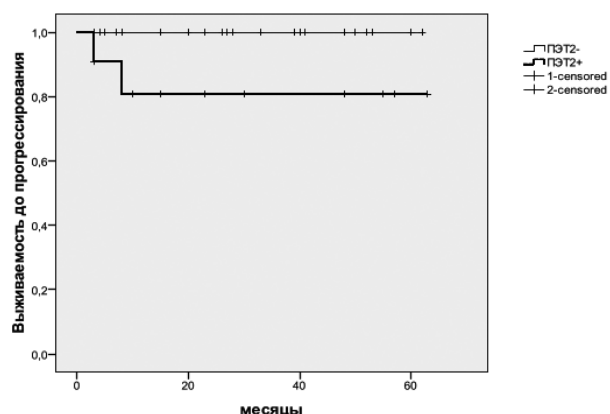


Рис1. Выживаемость без прогрессирования больных ЛХ в зависимости от результатов ПЭТ-2.

Значение визуальных и количественных критериев в анализе данных промежуточной совмещенной позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии с 18F-ФДГ у больных злокачественными лимфомами в процессе химиотерапевтического лечения

Ходжибекова М. М., Тютин Л. А., Костеников Н. А., Ильин Н. В.
Место работы: ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

e-mail: malika_25@mail.ru

Цель. Определение информативности промежуточной совмещенной позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии (ПЭТ/КТ) с 18F-ФДГ в оценке эффективности полихимиотерапевтического (ПХТ) лечения больных злокачественными лимфомами с применением 5-ти балльной шкалы критерия Deauville и количественного SUV-метода, сравнение результатов двух методов анализа.

Материалы и методы. ПЭТ/КТ проводилась 51 больному с морфологически верифицированной злокачественной лимфомой в возрасте от 19 до 67 лет. У 33 (64,7%) больных была диагностирована лимфома Ходжкина и у 18 (35,3%) пациентов неходжкинская лимфома различных гистологических типов. ПЭТ/КТ каждому пациенту выполнялась до начала ПХТ, после 2–3 цикла (промежуточное исследование) и после окончания 1-ой линии ПХТ.

Мониторинг и оценка противоопухолевого эффекта проводились по двум критериям: количественная оценка по критериям ΔSUV_{max} ($SUV_{max}^{базис} - SUV_{max}^{промеж} = \Delta SUV_{max}$) и визуальная оценка по критериям Deauville (5-ти балльная шкала). Соответственно количественной оценке результат ПЭТ/КТ считался положительным (наличие метаболической активности заболевания) при снижении промежуточной SUV_{max} менее чем на 66% по сравнению с базисным исследованием и появлении очагов de novo. Соответственно визуальной оценке результаты ПЭТ/КТ рассценивались как положительные при 4–5 баллах по критериям Deauville.

Результаты. Согласно визуальной оценке по критериям Deauville у 22 (43,1%) пациентов из 51 обследованного результаты промежуточной ПЭТ/КТ соответствовали 1–3 баллам, что свидетельствовало об отсутствии признаков метаболической активности заболевания и/или наличии минимального остаточного накопления РФП – ПЭТ-негативная группа.

У всех 22 пациентов данной группы согласно количественной оценке результатов промежуточной ПЭТ/КТ отмечалось снижение уровня SUV_{max} более чем на 66% по сравнению с базисным исследованием. Большая часть больных, 29 человек (56,9%) были отнесены к ПЭТ-позитивной группе, так как при промежуточной ПЭТ/КТ у них определялись очаги патологического накопления 18F-ФДГ, соответствующие 4–5 баллам по критериям Deauville.

Количественный анализ результатов промежуточной ПЭТ/КТ данной группы пациентов показал, что у всех пациентов (19 человек) с 5 баллами по Deauville определялось снижение уровня SUV_{max} менее чем на 66% по сравнению с базисным исследованием. Тогда как, при критерии Deauville равных 4 баллам основная часть больных (7 пациентов из 10) имели выраженное снижение (более чем на 66%) SUV_{max} при промежуточной ПЭТ/КТ, свидетельствующем о благоприятном прогнозе заболевания.

ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ

Заключение. результаты визуального и количественного анализа данных промежуточной ПЭТ/КТ с 18F-ФДГ целиком совпали у пациентов с полным метаболическим ответом на ПХТ лечение (ПЭТ-негативная группа) и у больных с 5 баллами по критериям Deauville отсутствием ответа на проведенное лечение. Большая часть больных с 4 баллами по Deauville имели признаки частичного метаболического ответа на терапию. Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют, что комплексное применение визуального и количественного анализа в оценке результатов промежуточной ПЭТ/КТ повышает информативность метода. Количественный анализ позволяет получить более детальную информацию у больных с частичным метаболическим ответом на проведенное лечение.

Трансплантация аутологичных стволовых клеток крови (аутоТСКК) в первой ремиссии фолликулярной лимфомы как «терапия спасения» пациентов с факторами неблагоприятного прогноза. Результаты первого проспективного исследования.

Нестерова Е.С.¹, Кравченко С.К.¹, Барях Е.А.², Мисюрина А.Е.¹, Мангасарова Я.К.¹, Воробьев В.И.², Чернова Н.Г.¹, Гемдзян Е.Г.¹, Савченко В.Г.¹

Место работы: 1. ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ

e-mail: Aibolit03@yandex.ru

Введение. Фолликулярная лимфома (ФЛ) является второй по частоте встречаемости В-клеточной лимфоидной опухолью; составляет около 22% случаев всех неходжкинских лимфом в России. Заболевание характеризуется, как правило, длительным рецидивирующим течением. Продолжительность каждой последующей ремиссии меньше, чем предыдущей, вследствие формирования лекарственной устойчивости и/или появления новых опухолевых клонов. У 15–20% больных в дебюте заболевания, вне зависимости от цитологического типа, наблюдается быстро прогрессирующее течение опухолевого процесса. У пациентов ФЛ с факторами неблагоприятного прогноза (FLIPI-1 III–IV, конгломераты лимфатических узлов более 7 см, наличие В-симптомов, 3 цитологический тип опухоли, недостаточный ответ опухоли после терапии первой линии) аутоТСКК позволяет увеличить общую (ОВ) и беспрогрессивную (БПВ) выживаемость.

Цель. Оценить эффективность высокодозной химиотерапии с последующей трансплантацией аутологичных стволовых клеток крови (аутоТСКК) в первой линии терапии больных ФЛ с факторами неблагоприятного прогноза.

Пациенты и методы. В период с 2000 по 2015 годы в ФГБУ Гематологический научный центр МЗ РФ было сконцентрировано 39 из 215 пациентов ФЛ с факторами неблагоприятного прогноза. В качестве индукционной терапии данной группе больных (39/215) была проведена терапия по программе R-CHOP. 29/39 пациентам (74%) в случае частичного ответа опухоли на индукционную терапию или достижения частичной ремиссии после 4–6 курсов ПХТ, но при наличии факторов неблагоприятного прогноза, была выполнена последовательная высокодозная терапия (ПВХ) с последующей аутоТСКК.

Из 29 больных аутоТСКК в первой линии терапии после индукционных режимов по программе R-CHOP выполнена

22/29 больным. Из 22/29 пациентов преимущество составили мужчины (17/22) с медианой возраста 46 лет (31–68). У 21/22 больного констатирована IV стадия заболевания по классификации Ann-Arbor. В 14/22 случаях у пациентов в дебюте заболевания определялись опухолевые конгломераты более 7 см внутрибрюшной или забрюшинной локализаций (bulky). У двух больных (2/22) отмечались явления лейкемизации. Основная группа пациентов (16/22) имела поражение костного мозга. По критериям FLIPI-1 пациенты разделились на три группы: в I группе риска – 5/22 больных, во II – 3/22, в III–IV – 14/22. В большинстве случаев наблюдалось наличие В-симптомов (16/22). У 16/22 пациентов диагностирован I–II цитологический тип ФЛ, у 6/22 – IIIA. По характеру пролиферации опухоли распределение оказалось следующим: нодулярный характер роста – 6/22 больных, нодулярно-диффузный – 13/22, диффузный – 3/22. Индекс пролиферативной активности в среднем составил 30% (8–90%).

Иммунохимическое исследование белков сыворотки крови и мочи проведено в 18/22 случаях, из них повышение концентрации сывороточного β_2 -микроглобулина выше нормы, как фактор неблагоприятного прогноза, диагностировано у 8/18 больных. Активность ЛДГ превышала нормальное значение у 14/22 пациентов (266–7806 Е/л).

RESULTS: Двадцать пациентов из 22, перенесшие аутоТСКК в первой линии терапии, живы и находятся в ремиссии по основному заболеванию: полная ремиссия достигнута у 18/22 больных, частичная – у 2/22. Период наблюдения составляет от 7 до 178 месяцев (медиана наблюдения 32 мес). У двух пациентов после аутоТСКК в первой ремиссии развились рецидивы заболевания: в одном случае – ранний рецидив спустя 9 месяцев, во втором случае – поздний рецидив спустя 6 лет от окончания терапии.

Заключение. Результаты первого проспективного исследования интенсивной терапии больных ФЛ в России демонстрирует, что ПВХ с последующей аутоТСКК в первой линии терапии позволяет достичь полную ремиссию заболевания у пациентов с факторами неблагоприятного прогноза, а также увеличить общую и беспрогрессивную выживаемость.

Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток у больных множественной миеломой. Результаты одноцентрового исследования

Петрова Г.Д., Мелкова К.Н., Чернявская Т.З., Горбунова Н.В., Кострыкина В.Н., Доронин В.Н.

Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение «РОНЦ им. Н.Н. Блохина», г. Москва
e-mail: galina_petrova@bk.ru

Цель. Аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является современным стандартом лечения впервые выявленных больных множественной миеломой (ММ) молодого возраста. Клиническое влияние аллогенной ТГСК (аллоТГСК) на течение ММ сегодня изучается. Целью данного одноцентрового исследования был анализ исходов аутологичной ТГСК (аутоТГСК) у больных с различным предтрансплантационным статусом ММ.

Материалы и методы. С 2007 по 2015 гг. в исследование были последовательно включены 102 больных ММ (49 мужчин). Всем пациентам, независимо от эффекта стандартной химиотерапии (ХТ), выполнялись заготовка стволовых клеток

КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК (ХИРУРГИЯ)

периферической крови (СКПК) и аутоТГСК. Повторное проведение аутоТГСК было рекомендовано в случае недостаточного эффекта первой аутоТГСК (менее, чем полная ремиссия (ПР)/ очень хорошая частичная ремиссия (ЧР)), а также в случае потери достигнутого после первой аутоТГСК результата (рецидив/прогрессирование заболевания (ПЗ)). При наличии полностью совместимого родственного донора планировалось выполнение тандемной ауто-аллоТГСК.

Результаты. Всего было выполнено 134 ТГСК, в том числе 8 ТГСК в рамках программы тандемной ауто-аллоТГСК. Тандемные ТГСК были исключены из последующего анализа. В ходе текущего сообщения доложены непосредственные и отдаленные результаты 126 аутоТГСК, которые были выполнены у 100 больных. У двух пациентов из этой группы впоследствии была выполнена тандемная ауто-аллоТГСК, при оценке отдаленных результатов эти пациенты цензурированы на момент выполнения тандемной ТГСК.

Медиана возраста на момент выполнения аутоТГСК составила 51 год (диапазон 29–64 лет). Временной интервал между диагностикой заболевания и выполнением первой аутоТГСК составил от 5 до 43 мес. (медиана 10 мес.), в 24% случаев этот промежуток превышал 1 год. У 26 больных через 7 мес. (диапазон 3,5–41 мес.) была выполнена вторая аутоТГСК.

Статус болезни перед выполнением аутоТГСК распределился следующим образом: ПР 14%, ЧР 56%, стабилизация заболевания (СЗ) 12%, ПЗ 18%. В большинстве случаев в качестве режима кондиционирования был использован мелфалан в дозе 200 мг/м², у 4 больных доза была снижена до 100–120 мг/м² по причине тяжелой почечной недостаточности. В качестве трансплантата у всех больных были использованы СКПК. Медиана перелитых СКПК составила 4,3х10⁶ CD34+ клеток/кг (диапазон, 2–14,8).

В течение раннего посттрансплантационного периода в большинстве случаев как гематологическая, так и негематологическая токсичность были 1–2 степени, что не требовало коррекции базовой сопроводительной терапии. Медиана времени до восстановления нейтрофилов более 0,5х10⁹/л составила 14 дней (диапазон, 10–28 дней). Медиана времени до восстановления тромбоцитов более 20х10⁹/л и 50х10⁹/л составила 12 дней (диапазон, 8–92 дней) и 13 дней (диапазон, 9–180 дней) соответственно. Медиана продолжительности госпитализации составила 22 дня. В ходе исследования эпизоды летальности, связанной с трансплантацией, не были отмечены.

При анализе течения раннего посттрансплантационного периода у больных ММ в зависимости от противоопухолевого эффекта стандартной ХТ значимые различия сроков приживления трансплантата, степени гематологической и негематологической токсичности, а также продолжительности госпитализации выявлены не были ($p>0,05$). При оценке эффекта через 1,5–3 мес. после аутоТГСК у 33% больных была достигнута ПР, у 52% – ЧР (в том числе 31% очень хороший ЧР), у 8% – СЗ, у 6% – дальнейшее ПЗ, в одном случае эффект неизвестен. Из 38 чел., у которых на момент проведения аутоТГСК ответ на предшествующее лечение был оценен как СЗ или ПЗ, рефрактерность заболевания была преодолена у 76% больных (ЗПР, 13 очень хороший ЧР, 13ЧР).

После выполнения аутоТГСК большинство пациентов оставалось под динамическим наблюдением, только у 12% больных проводилась поддерживающая терапия талидомидом, леналидомидом или бортезомибом. Показатели общей выжива-

емости (ОВ) и выживаемости без прогрессирования (ВБП) через 5 лет после выполнения аутоТГСК составили 67% и 51% соответственно. При оценке влияния предтрансплантационного статуса ММ на отдаленные результаты аутоТГСК значимые различия ОВ и ВБП выявлены не были ($p>0,05$).

Заключение. Учитывая относительную безопасность метода, а также отсутствие значимого влияния предтрансплантационного статуса заболевания на течение раннего посттрансплантационного периода и отдаленные результаты, аутоТГСК следует включать в программу лечения всех впервые выявленных больных ММ моложе 70 лет без абсолютных противопоказаний к высоким дозам ХТ, независимо от противоопухолевого эффекта стандартной ХТ.

Восстановление целостности толстой кишки после обструктивных резекций

Сатыбалдиев Т. Д., Макаров И. В.

Место работы: Самарский государственный медицинский университет г. Самара

e-mail: satybaldiyev@mail.ru

Введение. В России стандартизированный показатель больных раком прямой кишки в 2009 году составил 10,9‰ (Давыдов М. И., Аксель Е. М. 2011). Оперативное лечение рака прямой кишки не простая задача в онкологической практике; имеющиеся технические трудности при выполнении манипуляций в глубине малого таза, и возникающие в связи с этим послеоперационные осложнения, могут приводить к неудовлетворительным результатам, когда операция заканчивается по тем или иным причинам обструктивной резекцией прямой кишки.

Цель работы. Оценить возможность выполнения реконструктивно-восстановительных операций у пациентов перенесших обструктивную резекцию прямой кишки с использованием инвагинационной техники формирования анастомоза.

Материал и методы исследования. За период с 2010 по 2013 г. оперировано 6 пациентов со сроками от 6 до 11 месяцев с момента выполнения обструктивной резекции прямой кишки по поводу рака среднеампулярного отдела. Из них было 5 мужчин и 1 женщина в возрасте от 52 до 64 лет. При комплексном обследовании пациентов данных за прогрессирование опухолевого процесса не выявили. Длина культи прямой кишки по данным жесткой ректоскопии составляла от 6 до 8 см.

В течение 2–3 недель по принятой в клинике методике выполнялась подготовка прямой кишки. Всем пациентам после мобилизации культи прямой кишки из лапоротомного доступа формировали инвагинационные колоректальные анастомозы по предложенной нами методике «конец толстой кишки в бок культи прямой» однорядными узловыми швами. За линию анастомоза с целью декомпрессии устанавливалась полихлорвиниловая трубка.

Результаты. Несостоятельности швов анастомоза и гнойно-септических осложнений у оперированных по данной методике больных не наблюдали. Сенсорная, накопительная функции прямой кишки и функция анального держания восстанавливалась через 6–8 месяцев.

Заключение. Методика формирования инвагинационного колоректального анастомоза технически проста в выполнении

КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК (ХИРУРГИЯ)

нии, обладает хорошими функциональными результатами и может быть альтернативой формирования анастомоза аппаратным способом.

Результаты эндоскопического удаления образований толстой кишки при бессимптомном течении заболеваний

Башеев В. Х., Бережной В. В., Мотрий А. В., Целикова В. В., Поливанов А. К.

Место работы: Донецкий национальный медицинский университет им.М. Горького, г.Донецк

e-mail: dimaco1986@gmail.com

Цель. Оценить роль лечебно-диагностической колоноскопии в предупреждении колоректального рака и диагностике рака на ранних стадиях.

Материалы и методы. За период с 2010 по 2015 г.г.в эндоскопическом кабинете РОЦ имени профессора Г.В. Бондаря МЗ ДНР проходили обследование пациенты, получающие лечение по поводу опухолей различной локализации (мочевыводящих путей, молочной железы, женских половых органов, предстательной железы, печени, верхних отделов желудочно-кишечного тракта) с целью выявления патологических образований толстой кишки. Больные не предъявляли жалоб, характерных для заболеваний толстой кишки.

Колоноскопия была выполнена 3490 больным. Возраст пациентов 28–79 лет. Мужчин 1802, женщин 1688. Осмотр проводился с помощью видеоэндоскопических систем Pentax и Fuginon. Патологические образования (одиночные и множественные) были обнаружены у 1117 пациентов (32%).

Биопсия выполнена в 916 случаях. У 268 пациентов было произведено эндоскопическое удаление образований с последующим морфологическим исследованием. Удаление патологических образований выполнялось с использованием диатермической петли в режиме монополярной электрокоагуляции. Осложнений не было.

Результаты. Обнаружены следующие патологические образования: полиповидные образования на широком основании диаметром 2–30мм-у 780 пациентов, полиповидные образования 4–25мм на ножке-у 457 пациентов, подслизистые образования 5–15мм-у 56 пациентов, изъязвленные образования 10–30мм-у 16. Одиночные образования обнаружены у 194 пациентов, множественные- у 923.

При цитоморфологическом исследовании материала, полученного при 916 биопсиях выявлены следующие изменения: хроническое воспаление-78, гиперпластический полип-691 (75%), тубулярная аденома- 62 (6,7%), зубчатая аденома-39 (4,2%), аденокарцинома-46 (5%). У 268 (7,7%) пациентов было произведено эндоскопическое удаление 309 образований толстой кишки. При морфологическом исследовании выявлена следующая патология: гиперпластический полип –52 (16,8%), тубулярная аденома –214(69%), зубчатая аденома-43(13,9%), аденокарцинома-10(3,2%) карциноид-3(1%), липома-2(0,6%).

Рак с инвазией в подслизистый слой был выявлен в 12 случаях, рак в пределах собственной мышечной пластинки слизистой оболочки был выявлен в 9 случаях, в связи с чем были выполнены радикальные оперативные вмешательства – резекция прямой и сигмовидной кишки – в 14 случаях, правосторонняя гемиколэктомия – в 7 случаях.

Заключение. Лечебно-диагностическая колоноскопия, выполненная пациентам, страдающим различными онкологическими заболеваниями, не предъявляющим жалоб, характерных для заболеваний толстой кишки, позволяет диагностировать рак толстой кишки на ранних операбельных стадиях, выбрать тактику лечения с учетом морфологического строения образования и его локализации. Колоноскопия должна быть выполнена всем онкологическим больным

Стандартизованная техника выполнения лапароскопической лимфодиссекции D3 при опухолях правой половины ободочной кишки

Павленко А. Н., Шостка К. Г., Сахаров А. А., Чеглаков А. Н.

Место работы: ГБУЗ «Ленинградский областной онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Россия.

e-mail: andrewpavlenko@yandex.ru

Ключевые слова: рак ободочной кишки, лапароскопия, тотальная мезоколэктомия.

ссылка на видео – <https://youtu.be/7Nc6XQNYW0c>

В настоящее время нет общепринятой техники «complete mesocolic excision» рекомендованной для выполнения лапароскопическим способом, что и обусловило актуальность данной темы.

В 1 хирургическом отделении ГБУЗ «Ленинградский областной онкологический диспансер» вмешательства с выполнением тотальной мезоколэктомии лапароскопическим способом выполняются с 2013 г.

Целью настоящей работы является описать нашу методику выполнения «complete mesocolic excision» лапароскопическим способом.

Операция выполняется из 4-х портового доступа, при давлении 14–15 мм.рт.ст. Диссекция осуществляется ультразвуковым скальпелем «Гармоник». На наш взгляд диссекцию следует разделить на два этапа: первый – диссекция «снизу-вверх», после достижения определенных ключевых точек целесообразно перейти ко второму этапу – диссекции «сверху-вниз», плоскости диссекции должны соединиться на уровне основания венозного ствола Генле и средних толстокишечных сосудов. Данная методика применяется нами также при открытых вмешательствах и является стандартизованной техникой.

После осуществления тракции за купол слепой кишки ассистентом, хирург рассекает париетальную брюшину сразу под проекцией подвздошно-толстокишечных сосудов. Диссекция производится в медиально-латеральном направлении, фасция Тольда осторожными, низкоамплитудными движениями отделяется от мезоколической фасции. Одним инструментом хирург приподнимает отсепарованный мезоколон и удерживает его как занавеску, способствуя проникновению углекислого газа под давлением в щелевидное пространство между фасциями, помогая диссекции.

В латеральном направлении необходимо достичь переходной складки брюшины бокового канала живота. Визуализируются и отделяются от мезоколической фасции двенадцатиперстная кишка, головка поджелудочной железы и ее крючковидный отросток, под фасцию в этой ключевой точке необходимо установить салфетку, которая будет служить визуальным ориентиром при диссекции «сверху вниз». Далее рассекается париетальная брюшина корня брыжейки тонкой кишки от уровня основания a.v. ileocolica до основания кор-

КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК (ХИРУРГИЯ)

ня брыжейки поперечно-ободочной кишки. Осуществляется вход в сальниковую сумку левее средних ободочных сосудов через мезоколон.

Выделяется основание a.v. ileocolica, последние клипируются и пересекаются. Скелетизируется передняя полуокружность верхней брыжеечной вены до уровня основания венозного ствола Генле, со смещением клетчатки с лимфоузлами в сторону препарата, при этом может быть выделена, клипирована и пересечена непостоянная a.colica dextra. Под основание венозного ствола устанавливается вторая «сигнальная» салфетка. Поле этого маневра брыжейка ободочной кишки на уровне основания основных сосудистых магистралей отделена от верхних брыжеечных сосудов «сигнальными» салфетками, что делает диссекцию «сверху-вниз» более безопасной. Далее диссекцию, на наш взгляд, целесообразно продолжать из «верхнего» подхода.

После рассечения желудочно-ободочной связки непосредственно у дуги желудочно-сальниковых сосудов вскрываем сальниковую сумку. Рассекается желудочно-поджелудочная связка и визуализируется передняя поверхность поджелудочной железы. После отсечения брыжейки поперечно-ободочной кишки от нижнего края поджелудочной железы соединяются обе плоскости диссекции и завершается мобилизация и выделение желудочно-толстокишечного ствола, толстокишечная ветвь клипируется, пересекается. Выделяются основания средних толстокишечных сосудов, последние раздельно клипируются и пересекаются.

Сравнительная оценка непосредственных результатов робот-ассистированных и лапароскопических операций при колоректальном раке

Мурашко Р.А., Уваров И.Б., Каушанский В.Б.

Место работы: ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Россия
e-mail: uvarovivan@yandex.ru

Цель. Оценка непосредственных результатов робот-ассистированных радикальных операций при колоректальном раке.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ 30 пациентов, которым выполнены робот-ассистированные радикальные операции при колоректальном раке в период февраль – июль 2015 года в Клиническом онкологическом диспансере г. Краснодара. В изучаемой группе было 11 мужчин, 19 женщин, возраст пациентов 25–88 лет (среднее значение – $62,8 \pm 12,8$ лет). Индекс массы тела оперированных пациентов колебался от 20,5 до 45,5 (среднее значение $27,3 \pm 5,6$).

Локализация опухоли: сигмовидная кишка – 8; ректосигмовидный отдел – 5; прямая кишка – 17 (верхнеампулярный отдел – 11; среднеампулярный – 2; нижнеампулярный – 4). По критерию Т пациенты распределялись следующим образом: Т1–3, Т2–5, Т3–22; по критерию N: N0–23, N1–6, N2–1. Клинически значимую сопутствующую патологию имели 23 пациента (82%). Распределение по классификации Duke: стадия А – 8 (26,7%); В – 15 (50,0%); С – 7 (23,3%) пациентов. Первичные критерии оценки включали: длительность операции, кровопотерю, длительность пребывания в стационаре, осложнения, частота конверсий.

Для оценки онкологической адекватности использовали критерии, полученные при патогистологическом исследовании препарата: циркулярная граница резекции, дистальный клиренс, количество удаленных лимфоузлов. Статистическая обработка проведена с использованием компьютерной программы STATISTICA 6.0.

Результаты. Робот-ассистированные операции выполнены 30 пациентам с колоректальным раком. Характер выполненных операций: сигмоидэктомия и резекция сигмовидной кишки – 8; передняя резекция прямой кишки (ПРПК) – 16; низкая передняя резекция (НПРПК) – 6. У 28 пациентов из 30 (93,3%) операцию завершили формированием первичного колоректального анастомоза циркулярным сшивающим аппаратом; двоим пациентам выполнили обструктивную резекцию с концевой стомой. Превентивная стома сформирована 10 пациентам из 28 с первичным анастомозом (35,7%): трансверзостомы – 5; илеостомы – 5. У 18 пациентов (64,3%) сформировали первичный колоректальный анастомоз без превентивной стомы.

Длительность операции составила от 140 до 420 мин. (в среднем $260,9 \pm 78,8$ мин.). Кровопотеря составила в среднем $100,0 \pm 29,4$ мл ($50,0$ – $150,0$ мл). Конверсия на лапаротомию произведена у одного пациента (1/30; 3,3%), в связи со спаечным процессом в брюшной полости и полости малого таза. Осложнения развились у 1 пациента (1/30; 3,3%): тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) с летальным исходом. Летальность – 1 (1/30; 3,6%). Фатальное осложнение – ТЭЛА, развилось у пациента 88 лет, на фоне сопутствующей патологии – ишемической болезни сердца, пароксизмальной формы фибрилляции предсердий, экстрасистолии, гипертонической болезни.

Длительность послеоперационного нахождения пациентов в стационаре: от 10 до 21 дня (в среднем 13,9 дней). В послеоперационном периоде восстановление перистальтики отмечалось на 1–3 сутки (в среднем $1,1 \pm 0,19$ сут.). Начало функционирования стомы или первый стул – на 2–4 сутки послеоперационного периода (среднее значение – $2,2 \pm 0,28$ сут.). При патоморфологическом исследовании удаленных препаратов во всех случаях диагностирована аденокарцинома; высокодифференцированная – 6 случаев; умеренно – 21; низко – 1 случай. Размер опухоли составил от 1,0 до 8,0 см (среднее значение $4,2 \pm 2,7$ см).

Опухолевого роста в проксимальном и дистальном краях препарата не выявлено ни в одном случае. Хирургический клиренс у пациентов с опухолями прямой кишки после ПРПК ($n=16$) составил $3,6 \pm 1,5$ см, после НПРПК – $2,3 \pm 1,2$ см. Качество мезоректумэктомии при ПРПК и НПРПК (суммарно $n=22$) в 21 случае (95,5%) оценено как отличное, без повреждения мезоректальной фасции, в 1 препарате отмечены небольшие дефекты фасции. Исследование циркулярной границы резекции после ПРПК и НПРПК ($n=22$) подтвердило радикальность операции во всех случаях (R0-резекция в 100% случаев). В каждом удаленном препарате исследовалось не менее 12 лимфатических узлов (12–22). Метастазы в лимфоузлы выявлены у 5 пациентов. Поражения апикулярного лимфоузла не отмечалось ни в одном случае.

Заключение. Первый опыт применения робот-ассистированных операций при колоректальном раке свидетельствует об их безопасности и онкологической адекватности. Потенциальные преимущества и возможные ограничения использования данного метода в хирургии колоректального рака,

КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК (ХИРУРГИЯ)

а также отдаленные результаты лечения требуют своего дальнейшего изучения.

Возможности факторов прогноза у больных колоректальным раком после хирургического лечения

Козлов С.В., Каганов О.И., Савельев В.Н., Фролов С.А., Ткачев М.В., Козлов А.М., Швец Д.С., Ткачева В.М.

Место работы: Самарский областной клинический онкологический диспансер

e-mail: m9277477577@mail.ru

Актуальность. Разработка эффективных мер профилактики гнойных послеоперационных осложнений (ГПО) у больных колоректальным раком (КРР) является актуальной проблемой современной онкохирургии.

Цель исследования. Выявить значимые прогностические критерии развития гнойных послеоперационных осложнений (ГПО) у больных колоректальным раком (КРР).

Материалы и методы исследования. В исследование были включены 278 больных КРР, которым были выполнены радикальные или циторедуктивные хирургические вмешательства. К первой группе были отнесены: пол, возраст, наличие тяжелой сопутствующей патологии, индекс массы тела, локализация опухоли, стадия основного заболевания, длительность догоспитального периода, характер ранее перенесенного специального лечения, наличие осложненного рака толстой кишки, наличие анемии, степень анестезиологического риска по ASA. Ко второй группе предикторов ГПО были отнесены: характер оперативного вмешательства, вариант восстановления кишечной непрерывности, стаж работы хирурга (< 5 лет, > 5 лет), длительность операции (<3 часов, >3 часов), объем кровопотери (<1 литра, >1 литра), интраоперационная контаминация брюшной полости.

В нашем исследовании мы предлагаем интегральный прогностический критерий, учитывающий субъективную интегральную оценку оперирующим хирургом предоперационных факторов риска (общее состояние больного, запущенность основного заболевания, тяжесть сопутствующей патологии, объем планируемой операции: 1 балл – хороший, 2 балла – удовлетворительный, 3 балла – плохой прогноз), а также таких интраоперационных критериев, как продолжительность операции (более 3 часов – + 1 балл) и интраоперационная контаминация раны +1 балл.

Результаты. ГПО осложнения были диагностированы у 48 пациентов (17,2%). Частота ГПО при локализации опухоли в прямой кишке составила 22,2%, в правой половине ободочной кишки – 3%, в левой половине – 11,1%. ($p < 0,05$). Частота ГПО у пациентов с 3–4 (34%) стадией КРР 24,2%, аналогичный показатель у пациентов с 1–2 стадией заболевания составил 13,6% ($p < 0,05$). В случае, когда интегральный прогностический критерий (ИПК) составлял 1–2 балла, частота развития ГПО составила не более 10%. В тех случаях, когда ИПК составлял 4–5 баллов частота развития ГПО достигала 28–50%.

Выводы. Локализация опухоли в прямой кишке, стадия заболевания являются значимыми прогностическими критериями развития ГПО. Предлагаемый интегральный прогностический критерий может быть использован для определения риска развития гнойных послеоперационных осложнений у больных КРР.

Результаты лечения больных раком прямой кишки после тазовых эквисцераций

Шостка К.Г., Павленко А.Н., Фокина А.В., Арутюнян К.В., Сахаров А.А., Роман Л.Д.

Место работы: ГБУЗ, Ленинградский областной онкологический диспансер, г. Санкт-Петербург, Россия.

e-mail: andrewpavlenko@yandex.ru

Ключевые слова: местнораспространенный рак, эквисцерация, малый таз.

Введение. Удельный вес местнораспространенных опухолей органов малого таза по данным разных авторов достигает 35%, а развитие рецидивов опухолей после оперативного лечения или сочетанной лучевой терапии по прежнему не имеет тенденции к снижению и варьирует от 10 до 40%. Очевидно, что основным компонентом комплексного лечения данной категории больных остается хирургический метод. Адекватным объемом операции является эквисцерация малого таза (ЭМТ).

Цель исследования. Изучить результаты хирургического лечения пациентов с местнораспространенными и рецидивными опухолями малого таза.

Материалы и методы исследования. В период с 2006 по 2013 в Ленинградском областном онкологическом диспансере выполнено 218 эквисцераций малого таза. Для ретроспективного анализа результатов лечения была составлена карта кодирования историй болезни основанная на 86 признаках. Для статистической обработки информации использован пакет прикладных программ Statistica 7 for Windows.

Результаты. Первичные опухоли выявлены у 144 пациентов (66,1%), у 74 пациентов (33,9%) диагностирован рецидив рака после различных методов лечения. По локализации опухоли пациенты распределились следующим образом: колоректальный рак – 81 (37,1%), рак шейки матки – 86 (39,4%), рак яичников – 21 (9,6%), рак мочевого пузыря – 30 (13,8%).

Выполнены следующие виды эквисцераций малого таза: тотальная эквисцерация – 85 (39%) (супралевакторная – 67, инфралевакторная – 18), передняя эквисцерация – 65 (29,8%) и задняя эквисцерация – 68 (31,2%) (супралевакторная – 53; инфралевакторная – 15).

Осложнения в послеоперационном периоде развились у 68 пациентов, что составило 31,2%. Умерло 17 пациентов, послеоперационная летальность составила – 7,8%. Причинами летальных исходов явились: перитонит и/или сепсис – 12; ТЭЛА, ОИМ – 3; кровотечение – 2. Средняя продолжительность операции – 186 мин. Средняя кровопотеря – 860 мл.

Средняя продолжительность операции составила 186 мин. Средняя кровопотеря – 860 мл. Кумулятивная пятилетняя выживаемость рассчитанная по методу Каплана-Майера в группе рак шейки матки составила – 50%, в группе рак яичника – 25%, в группе колоректальный рак – 35%, в группе рак мочевого пузыря – 30%.

Выводы. Выполнение ЭМТ в клиниках с достаточным опытом позволяет считать эту операцию стандартным методом лечения пациентов с местнораспространенным раком органов малого таза. Совершенствование техники оперативных вмешательств, достижения в области анестезиологии и интенсивной терапии позволяют достичь благоприятных результатов лечения.

МЕЛАНОМА

О необходимости реформы российской дерматоонкологии

Белова И.¹, Бройнингс Х.²

Место работы: 1. д.э.н., кафедра менеджмента здравоохранения университета им. Эрнста Морица Арндта г. Грайфсвальда, ФРГ, *Lehrstuhl für ABWL und Gesundheitsmanagement der Universität Greifswald, Friedrich-Loeffler-Strasse 70, Raum 215, 17487 Greifswald, Germany*; 2. проф. д.м.н., Дерматологическая клиника университета г. Тюбингена, ФРГ, *Universitäts-Hautklinik Tübingen, Liebermeisterstr. 25, 72076 Tübingen, Germany*
e-mail: *Belova-Irinda@mail.ru;*
Helmut.Breuninger@med.uni-tuebingen.de

Цель. Злокачественные новообразования кожи (ЗНК) – самые частые онкологические заболевания в мире [1]. Только в России ежегодно регистрируется 72.500 новых случаев ЗНК [2, 3]. Для качественной и эффективной организации медицинского обеспечения населения требуются международные сравнительные анализы. Они показывают, что летальность при меланоме в России в 3 раза, а при немеланотических раках кожи (NMSC), составляющих 80–90% всех ЗНК [4], – 8 раз выше, чем в ФРГ (таблица 1). Степень рецидивности при базальноклеточном раке кожи (БСК), на который приходится около 80% всех NMSC [4], составляет в России 25–50% [5, 6], в то время как NMSC в ФРГ лечатся почти безрецидивно [7]. В отношении инвазивных ЗНК в России медицинский персонал используется в 6 раз, а койко-места в больницах – в 9,4 раз менее эффективно, чем в ФРГ [8]. Целью исследования было определение различий в организации профилактических осмотров, лечения, реабилитации пациентов в отношении ЗНК, профессиональной подготовки дерматологов и использования медицинских мощностей в России и ФРГ.

Методы. Были проанализированы данные Центра раковых регистров при Институте им. Роберта Коха, раковых регистров земли Шлезвиг-Гольштейн, тестирующей скрининговую программу, ФГУ ЦКБП РФ со скрининговой программой, общероссийского в МНИОИ им. П. А. Герцена, статистических служб обеих стран, немецкого Института возмещения больничных затрат, из публикаций и опросов протезистов и челюстно-лицевых хирургов.

Результаты. В то время как в ФРГ скрининговые обследования на выявление ЗНК предлагаются в рамках обязательного медицинского страхования (ОМС) всем, начиная с 35-летнего возраста, каждые два года в любое время, население в России может пройти такие бесплатные обследования только в рамках «Дня меланомы». Так ежегодно обследуется лишь 0,006% населения России [8], что ведёт к запущению заболеваний. Большинство российских дерматологов в отличие от своих немецких коллег не могут пользоваться дерматоскопом. Разработанные в ФРГ 30 лет назад [9], рекомендованные в стандартах лечения [10–12], при NMSC почти безрецидивные [7] и сберегающие здоровую ткань [13] методы микроскопически контролируемой хирургии (МКС) с беспробельным гистологическим контролем краёв резекции (трёхмерной гистологией) в России неизвестны. В то время как в ФРГ 96,6 [14] – 98,5% [4] всех меланом и 96% всех NMSC [4] лечатся хирургически при локальной анестезии (ЛА) [15], в России из-за этого предпочитают нехирургические методы, доля которых во всех применённых терапиях при БСК в Москве в 2009 г. составила около 70%. Половина БСК при этом лечи-

лась близкофокусной рентгенотерапией, часто в комбинации с другими методами (таблица 2). Вред от облучения в России в рамках ОМС не лечится. Хирургические иссечения опухолей кожи производятся в России зачастую под общим наркозом, что может наносить вред, особенно пожилым пациентам, т.е. большинству [2, 3] заболевших ЗНК. Обходятся они при БСК в России (в среднем 1.675 евро [16, 8]) во столько же, как и в ФРГ (от 1.624 до 1.800 евро) [17].

Так как в России нет стандартов документирования, при гистологических исследованиях, в отличие от ФРГ, часто не определяется вертикальная толщина удалённой опухоли, что делает невозможным прогноз заболеваний. В ФРГ пациентам со ЗНК ежегодно в больницах проводится около 44.300 пластических операций, из них около 35.500 операций – в области головы и шеи [18], а также индивидуально изготавливается около 1.500 силиконовых эктопротезов для области головы с двухлетним сроком службы. Хотя в России на 10.000 жителей работает в 1,53 раза больше дерматовенерологов и в 1,4 раза больше хирургов (статистика специально по челюстно-лицевым хирургам отсутствует) [8], в России, так как российские дерматовенерологи не обучаются хирургии и пластической хирургии, ежегодно проводится всего лишь около 3.000 реконструктивных операций после удаления опухолей в лицевой области. Тот факт, что российские лаборатории в год изготавливают в целом около 400 эктопротезов, также косвенно указывает на то, что большинство российских пациентов со ЗНК в лицевой области не имеет возможности выигрывать от самого действенного способа лечения: от хирургического иссечения злокачественной опухоли.

Из-за недоступности качественного медицинского обеспечения, в т.ч. реабилитации, в рамках ОМС в России не все заболевшие обращаются к врачам, и заболевания регистрируются и лечатся не полностью. Так, возрастностандартизированные показатели заболеваемости в Кремлёвских клиниках, где получают медицинское обслуживание в среднем 70.000 человек, в 3,8 раза выше, чем в целом по Москве [8].

Путём перехода на простые и дешёвые Тюбингенские методы МКС с трёхмерной гистологией за счёт снижения рецидивности количество пациентов в России может быть уменьшено ежегодно на 16.500–33.000. Даже при полном охвате населения скрининговыми обследованиями на ЗНК и полном выявлении заболеваний в России имелись бы достаточные мощности для медицинского обеспечения населения по новейшим стандартам [8].

Заключение. Благодаря внедрению скрининговых обследований на ЗНК в рамках ОМС и простых стандартов лечения (МКС с трёхмерной гистологией под ЛА) борьба со ЗНК в России была бы значительно эффективнее. Для этого в России необходимы подгонка программ профессиональной подготовки врачей и патологоанатомов к немецким планам обучения и создание лабораторий по изготовлению эктопротезов.

Сравнительная характеристика соматических мутаций в гене BRAF у больных меланомой кожи Юга России

Пржедецкий Ю. В., Водолажский Д. И., Златник Е. Ю., Енин Я. С., Кочев С. С., Двадненко К. В.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследователь-

МЕЛАНОМА

ский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. Меланома кожи человека является исключительно агрессивной опухолью с высоким уровнем летальности и высокой склонностью к рецидивам и метастазированию. Несмотря на то, что она охватывает лишь 5% случаев всех злокачественных новообразований кожи, она является причиной приблизительно 75% летальных случаев от злокачественных новообразований кожи.

Ее метастазы часто локализованы в лимфатических узлах, головном мозге, печени и других органах [Friedman, R. J.; Heilman, E. R. The pathology of malignant melanoma. Dermatol. Clin. 2002, 20, 659–676.]. Основным приоритетом в развитии современной противоопухолевой химиотерапии является поиск таргетных препаратов, способных избирательно влиять на компоненты сигнальных путей, участвующих в механизмах канцерогенеза, таких как Вемурафениб.

Нарушение в регуляции клеточного цикла, необходимое для развития меланомы, часто связано с изменениями в сигнальном пути RAS/RAF/MEK/MAPK, который является центральным регулятором клеточной пролиферации и выживания. Мутированные белки Ras или Raf постоянно стимулируют пролиферацию клеток, инвазию и метастазирование. Такие мутации наблюдались в 90% клинических случаев меланомы [Smalley, K. S. Understanding melanoma signaling networks as the basis for molecular targeted therapy. J. Invest. Dermatol. 2010, 130, 28–37].

Цель – исследование проявляемости соматической мутации V600E в гене BRAF опухолевых биоптатов пациентов с диагнозом меланома кожи для адекватного назначения таргетных препаратов (вемурафениб).

Материалы и методы. В исследовании участвовали 35 пациентов Юга России и Северного Кавказа: 15 мужчин, 20 женщин в возрасте от 35 до 77 лет с морфологически подтвержденным диагнозом меланома кожи. Для молекулярно-генетического исследования использовали 3 мкм срезы парафиновых блоков (FFPE), содержащие не менее 20% опухолевых клеток.

Экстракция ДНК включала стандартную процедуру депарафинирования в орто-ксилоле, лизис в 2% SDS – буфере в присутствии протеиназы K и дополнительную очистку от ингибиторов на колонках QIAamp® DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Germany). Для проведения RT-PCR концентрацию ДНК нормализовывали до величины 2 нг/мкл. При помощи набора реагентов «Real-Time-PCR-BRAF-V600E» («Биолинк», Россия) проводили определение 1 миссенс-мутации в 15 экзоне гена BRAF: V600E. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием непараметрического критерия – 2 для порогового уровня $p < 0.05$.

Заболеваемость меланомой кожи без учёта статуса наличия/отсутствия мутаций между пациентами мужского и женского пола была статистически достоверной для уровня $p = 0.002$, и в группе женщин встречалась в 2 раза чаще, чем у мужчин. Как показали результаты нашего исследования, усредненный показатель частоты мутаций V600E в 15 экзоне гена BRAF, для мужчин и женщин в нашем исследовании составил 40%, при этом процент мутаций у мужчин составил величину 26,7%, а у женщин – 50%. Таким образом, частота возникновения соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена BRAF у женщин почти в 2 раза превышала аналогичный показатель для

мужчин, что хорошо коррелировало с показателем заболеваемости.

Был также проведен анализ возможных отличий частот соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена BRAF в разных возрастных группах пациентов: до 55 лет включительно, и старше 55 лет. В группе пациентов до 55 лет частота возникновения соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена BRAF у мужчин составила 33%, в то время как у женщин аналогичный показатель был равен 55,6%. В группе пациентов старше 55 лет частота возникновения соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена BRAF у мужчин составила 25%, в то время как у женщин аналогичный показатель был равен 45,5%.

Заключение. Усредненный показатель частоты мутаций V600E в 15 экзоне гена BRAF (для мужчин и женщин) составил 40%. Процент соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена BRAF у мужчин составил величину 26,7%, а у женщин – 50%. Наблюдалось уменьшение случаев частоты соматических мутаций V600E в 15 экзоне гена BRAF у мужчин и женщин старше 55 лет по сравнению с аналогичными группами пациентов моложе 55 лет.

Факторы роста в опухолевой ткани базальноклеточного рака

Пржедецкий Ю. В., Франциянц Е. М., Комарова Е. Ф., Позднякова В. В., Шарай Е. А., Черярина Н. Д.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Изучение уровня васкулоэндотелиального фактора роста и его рецептора, а также фактора роста фибробластов в опухолевых тканях первичного (различных клинических форм) и рецидивного базальноклеточного рака.

Материалы и методы. В 10% цитозольных фракциях тканей опухоли базальноклеточного рака кожи (БКР) солидного ($n=20$), язвенно-инфильтративного ($n=16$) и поверхностного вариантов ($n=10$), а также в ткани рецидивов ($n=22$) методом ИФА определяли экспрессию васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) и его рецептора (VEGFR1), а также фактора роста фибробластов (FGF). В качестве контроля использовали здоровую кожу, полученную при оперативном лечении пациентов без онкопатологии ($n=20$).

Результаты. В ткани первичных опухолей БКР содержание VEGF было повышено: при язвенно-инфильтративной форме – в 4,7 раза, при поверхностной – в 5,3 раза по сравнению с показателями в здоровой коже. При этом экспрессия VEGF в ткани солидной формы опухоли оставалась неизменной относительно контроля. В ткани рецидивной опухоли уровень VEGF был повышен в 6,7 раза относительно контроля.

Содержание sVEGFR1 увеличивалось неодинаково. Наибольшим повышением характеризовалась ткань опухоли язвенно-инфильтративного БКР – в 3,1 раза по сравнению с нормой. Экспрессия рецептора в первичных опухолях остальных изученных клинических форм БКР также увеличена: при солидной форме – в 1,5 раза, при поверхностной в 1,8 раза относительно нормальной кожи. В ткани рецидивов БКР этот показатель превышал норму в 2,2 раза.

Анализ коэффициента соотношения уровня VEGF и его рецептора обнаружил разнонаправленную динамику. Показано снижение коэффициента в опухолевой ткани при солидной

МЕЛАНОМА

форме БКР в 1,8 раза и, напротив, повышение показателя в 1,5 и 2,9 раза при язвенно-инфильтративной и поверхностной форме соответственно. В ткани рецидивных опухолей VEGF/sVEGFRI был выше нормы в 3 раза.

Экспрессия FGF в ткани солидного, язвенно-инфильтративного и рецидивного БКР повышалась в 1,6; 1,7 и 1,3 раза соответственно, а в ткани поверхностной опухоли оставалась на уровне контрольных значений.

Заключение. В большинстве опухолевых тканей изученных форм БКР происходит выраженная экспрессия VEGF. Преваляирование экспрессии VEGF в тканях базальноклеточного рака на фоне недостаточного связывания его рецептором VEGFR1 может косвенно свидетельствовать об активации сигнального пути VEGF через VEGFR2. При этом, только в случае язвенно-инфильтративных и рецидивных опухолей БКР экспрессия VEGF усилена повышенной продукцией FGF. Следует отметить, что в случае солидной формы БКР не происходит изменения содержания VEGF в опухолевой ткани, однако повышена выработка FGF, что позволяет предположить возможную активацию альтернативного сигнального каскада с ведущей ролью FGF.

Мутационный статус – основа для таргетной терапии меланомы

Мазуренко Н.Н., Цыганова И.В., Лушникова А.А., Черемушкин Е.А.

Место работы: ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, г. Москва

e-mail: nnmazurenko@mail.ru

Актуальность. Меланомы – наиболее опасное злокачественное заболевание кожи, которое отличается клинической и молекулярной гетерогенностью. Основная роль в патогенезе меланомы принадлежит MAPK-сигнальному пути, который гиперактивирован в 90% случаев меланомы. В зависимости от происхождения и опухолевого генотипа меланомы подразделяются на субтипы, которые характеризуются специфическими мутациями в онкогенах BRAF, NRAS и KIT. Метастазирующая меланомы прогностически крайне неблагоприятна и резистентна ко всем видам традиционной химиотерапии.

В последние годы улучшение результатов послеоперационного лечения метастатической меланомы стало возможно благодаря блокаде основных сигнальных путей, специфичных для меланомы, с использованием ингибиторов, эффективных только у пациентов с определенным типом мутации (таргетная терапия). Представлялось важным изучить спектр мутаций онкогенов BRAF, NRAS и KIT в различных формах метастатической меланомы и определить чувствительность опухолей к препаратам таргетной терапии.

Материалы и методы. Исследовали опухолевую ДНК, полученную с помощью макродиссекции парафиновых срезов первичных опухолей или метастазов меланомы от 222 пациентов с меланомой кожи (199) или слизистых оболочек (23). Мутации определяли методом полугнездовой ПЦП с последующим секвенированием.

Результаты. В 199 случаях меланомы кожи выявлены мутации онкогенов BRAF (55,3%), NRAS (14,6%) и KIT (1,5%). Спектр мутаций различался в образцах меланомы в зависимости от локализации и подверженности ультрафиолетовому облучению (УФО). Мутации BRAF доминировали в меланоме

кожи на закрытых (65,4%) для УФО поверхностях и значительно реже выявлялись в опухолях на открытых для УФО участках кожи (48,6%), а также в акрально-лентигиозной меланоме (16,6%).

В 23 случаях лентигиозной меланомы слизистых оболочек различной локализации мутации BRAF выявлены в 17,4%. Среди мутаций серин-треониновой киназы BRAF доминировали замены V600E (91,8%) и V600K (4,5%), чувствительные к ингибиторам BRAF: вемурафенибу или дабрафенибу. В 23 случаях лентигиозной меланомы слизистых оболочек различной локализации мутации BRAF выявлены в 17,4%. Среди мутаций серин-треониновой киназы BRAF доминировали замены V600E (91,8%) и V600K (4,5%), чувствительные к ингибиторам BRAF: вемурафенибу или дабрафенибу.

В отличие от BRAF частота мутации NRAS (замены Q61R/H/L или G12C) была выше в меланоме кожи на открытых (31,4%), чем на закрытых (9,6%) для УФО поверхностях ($p=0,005$), в акрально-лентигиозной меланоме (16,6%) и лентигиозной меланоме слизистых оболочек (13,0%). Меланомы с мутациями NRAS потенциально чувствительны к ингибиторам MEK (траметинибу, селуметинибу, MEK 162).

Мутации рецепторной тирозинкиназы KIT выявлены исключительно в 11 экзоне гена KIT только в меланоме на открытых для УФО участках кожи (5,7%) и меланоме слизистых оболочек (34,8%), и такие опухоли чувствительны к иматинибу и другим тирозинкиназным ингибиторам. Спектр мутаций в лентигиозной меланоме слизистых оболочек зависит от локализации опухоли: мутации KIT выявлены в 50% меланомы вульвы и 50% синоназальной меланомы, но отсутствовали в меланоме влажной, тонкой кишки и аноректальной области.

Мутации BRAF и NRAS выявлены в образцах меланомы влажной, слизистой полости носа и тонкой кишки. В трех случаях меланомы прямой кишки и анального канала мутации BRAF, NRAS и KIT не обнаружены. Полученные результаты использовались при назначении персонализированной таргетной терапии.

Выводы. Впервые у российских больных проведен комплексный анализ мутаций онкогенов в различных формах метастатической меланомы кожи и слизистых оболочек. Мутационный статус строго ассоциирован с анатомическим типом, локализацией меланомы и повреждением клеток ультрафиолетом. Определение мутаций онкогенов крайне важно для выбора тактики лечения больных различными вариантами меланомы.

Анализ мутаций онкогенов в различных вариантах меланомы глаза

Цыганова И.В., Назарова В.В., Утяшев И.А., Орлова К.В., Демидов Л.В., Мазуренко Н.Н.

Место работы: ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, г. Москва

e-mail: nnmazurenko@mail.ru

Актуальность. Меланомы глаза составляет 3,7–5% всех случаев меланомы и среди вариантов меланомы глаза наиболее распространена увеальная меланомы, которая возникает в результате злокачественной трансформации меланоцитов сосудистой оболочки глазного яблока (хориоидеи) (80%), реснитчатого (цилиарного) тела (15%) или радужки. Основные молекулярные нарушения при увеальной меланоме состоят в активации митоген-активированных киназ MEK и ERK в пер-

МЕЛАНОМА

вую очередь вследствие мутации в генах GNAQ или GNA11, кодирующих альфа-субъединицы гетеротримерных G-белков, которые являются ГТФ-азами и участвуют в регуляции дифференцировки меланоцитов. Реже в увеальной меланоме хориоидеи встречаются мутации гена KIT, мутации гена BRAF находят в меланоме радужки.

Меланома конъюнктивы составляет 5% меланомы глаза, возникает из меланоцитов базального слоя эпителия конъюнктивальной мембраны и сходна с меланомой слизистых оболочек, поэтому активация MAPK каскада происходит за счет мутаций генов BRAF или NRAS. В последние годы разрабатывается таргетная терапия меланомы глаза, при этом мишенями для ингибирования MAPK каскада являются MEK, KIT или BRAF.

Цель работы состояла в анализе спектра онкогенов в образцах первичных опухолей или метастазов меланомы глаза различной природы.

Материалы и методы. Исследовали опухолевую ДНК, полученную с помощью макродиссекции парафиновых срезов первичных опухолей или метастазов меланомы глаза от 61 пациента с увеальной меланомой и 6 пациентов с меланомой конъюнктивы. Мутации в генах GNAQ (экзон 5), GNA11 (экзон 5), KIT (экзоны 11,13,17), BRAF (экзон 15) или NRAS (экзон 2) определяли методом полугнездовой ПЦП с последующим секвенированием.

Результаты. При анализе ДНК из 61 увеальной меланомы выявлены мутации Q209L/P в генах GNAQ (39,3%) и GNA11 (42,2%), что выражается в замене глутамин на лейцин или пролин в молекуле альфа-субъединицы G-белка. Мутации выявлены исключительно в 11 экзоне KIT в 6,6% увеальной меланомы. Также выявлены мутации BRAF (1,6%) в меланоме цилиохориоидальной зоны и NRAS (1,6%) в меланоме иридоцилиарной зоны. В 6 случаях меланомы конъюнктивы выявлены мутации BRAF (66,6%) и NRAS (16,6%). Для лечения увеальной меланомы с мутацией в 11 экзоне KIT возможно применение тирозинкиназного ингибитора иматиниба, а при лечении меланомы глаза с мутацией BRAF – ингибитора серин-треониновой киназы дабрафениба. По литературным данным при мутациях генов GNAQ, GNA11 и NRAS возможен лечебный эффект при применении ингибиторов MEK, например, селуметиниба.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют, что меланома глаза характеризуется биологической гетерогенностью и варианты меланомы различаются по типу активирующих генетических нарушений. Анализ мутаций онкогенов необходим для выбора тактики лечения различных вариантов меланомы глаза.

Факторы локального клеточного иммунитета при меланоме кожи

Златник Е. Ю., Бахтин А. В., Кочуев С. С., Новикова И. А., Селютина О. Н., Пржедецкий Ю. В., Загора Г. И.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list

Цель исследования. Изучение особенностей лимфоцитарного состава опухолевой ткани и перитуморальной области меланомы кожи.

Материалы и методы. Исследование было проведено на пациентах, госпитализированных в отделение опухолей кожи, мягких тканей и молочной железы № 2 Ростовского научно-исследовательского онкологического института с октября 2014 по март 2015 гг. В изучаемую группу вошли больные меланомой кожи с расположением патологического очага на верхних (3) и нижних конечностях (3), волосистой части головы (2), туловище (4), лице (2), из которых 8 женщин и 6 мужчин в возрасте от 34 до 82 лет.

По морфологической форме преобладала узловая меланома с глубиной инвазии от 2 до 15 мм по Бреслоу. Одна пациентка имела отдаленные метастазы в легкие, у двоих больных имелось метастатическое поражение регионарного коллектора. Все случаи заболевания были первичными, неоадьювантного лечения не получали. Больным было проведено хирургическое лечение в объеме широкого иссечения опухоли с пластикой местными тканями (7), свободным кожным лоскутом (5), встречными кожно-жировыми лоскутами (1), ротационным кожно-жировым лоскутом (1).

Пациентам с наличием метастазов в регионарных лимфатических узлах дополнительно проводилась лимфодиссекция. Объектом изучения являлись фрагмент ткани опухоли и кровь. Исследования проводились не позднее, чем через час после хирургического лечения на свежем послеоперационном материале и крови, взятой перед проведением операции. Кровь брали из локтевой вены в пробирку и антикоагулянтом (ЭДТА). Удаленные опухоли подвергались патоморфологическому исследованию; кроме того, отдельные фрагменты опухолевой ткани и перитуморальной зоны (визуально неизменной ткани, прилежащей к опухоли), гомогенизировали с помощью дезагрегирующего устройства BD Medimachine. В крови и в гомогенатах тканей определяли популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов на проточном цитометре FACSCantoII (BD) с панелью антител T-, B-, NK (CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD16/56), дополнительно изучали количественное содержание T-регуляторных (T-regs) клеток (CD4+CD25+CD127dim). Результаты выражали в процентах от общего количества лимфоцитов, а для T-regs в процентах от CD3+CD4+ клеток.

Результаты. Результаты исследования демонстрируют ряд различий лимфоцитарного состава опухоли и ее окружения от показателей крови. Так, уровень T-лимфоцитов в опухоли статистически достоверно выше, чем в крови ($87,7 \pm 2,8$ и $68,6 \pm 3,0\%$ соответственно), а содержание B- и NK-лимфоцитов – ниже ($3,2 \pm 0,5$ против $10,3 \pm 1,5\%$ и $7,1 \pm 2,2$ против $20,0 \pm 2,2\%$ соответственно); $p < 0,05$. В опухоли отмечено накопление T-regs, количество которых в процентах от CD3+CD4+ клеток оказалось в 3 раза выше, чем в крови ($20,7 \pm 2,9$ и $6,85 \pm 0,6$ соответственно ($p < 0,05$), хотя по общему уровню CD3+CD4+ лимфоцитов кровь и опухолевая ткань не имели статистически достоверных различий.

Состав лимфоцитарных популяций и субпопуляций ткани перитуморальной зоны демонстрирует ряд отличий от показателей как крови, так и опухолевой ткани. По сравнению с кровью в ней выявлено статистически значимо больше CD3+CD4+ лимфоцитов ($53,1 \pm 3,3\%$ против $43,5 \pm 2,4\%$ в крови и $42,0 \pm 2,7\%$ в опухолевой ткани) и меньше CD3+CD8+ ($21,6 \pm 1,7\%$ против $43,5 \pm 2,4\%$ в крови и $40,0 \pm 3,2\%$ в опухоли), а также CD19+ клеток.

По сравнению с тканью опухоли перитуморальная область содержит меньше T-regs ($9,96 \pm 2,2$ против $20,7 \pm 2,9\%$) на фоне

МЕЛАНОМА

более высокого уровня CD3+CD4+ клеток. Интересно отметить, что CD3+CD4+ лимфоциты, включающие, как известно, T-regs в качестве минорной субпопуляции, концентрируются в перитуморальной зоне, однако, в саму опухолевую ткань попадают преимущественно T-regs.

Несмотря на то, что статистически достоверных различий между содержанием CD16/56+ клеток в опухоли и в перитуморальной зоне не получено, отмечается постепенное снижение их уровня от периферической крови через перитуморальную зону к опухоли, причем такая направленность противоположна наблюдаемой для T-regs.

Заключение. В ткани меланомы определяется высокое количество Т-лимфоцитов при более низком содержании В- и NK-клеток по сравнению с кровью, а также высокий уровень T-regs. По содержанию CD3+CD4+ и CD3+CD8+ лимфоцитов ткань меланомы ближе к крови, чем ткань перитуморальной зоны. Тем не менее, накопление в опухоли клеток обеих основных Т-клеточных субпопуляций, потенциально обладающих способностью к распознаванию антигенов, продукции цитокинов, а также цитотоксичностью, не реализуется в виде противоопухолевого действия.

Причиной этого, вероятно, является то, что, несмотря сходное процентное содержание CD3+CD4+ клеток в крови и в ткани меланомы, уровень T-regs в последней значительно выше. Можно предположить избирательность миграции этих клеток в опухолевую ткань меланомы вследствие взаимодействия их мембранных рецепторов с хемокинами, что описано в литературе на примере рака яичника (Curiel T.J. et al., 2004) и желудка (Mizukami Y. et al., 2008).

Нейроэндокринные и метаболические аспекты патогенеза злокачественного роста перевивной меланомы В16

Бандовкина В. А., Кит О. И., Франциянц Е. М., Тодоров С. С.
Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону
e-mail: rnioi@list.ru

Введение. Несмотря на многочисленные достижения в молекулярно-генетических исследованиях меланомы кожи, до сих пор не выяснен патогенез заболевания и не выработаны эффективные методы лечения. Экспериментальные работы по перевивке опухолей животным позволяют изучить влияние злокачественного процесса на различные системы и органы, установить тканевую насыщенность биологически активными веществами опухоли и окружающих ее тканей, по мере роста и развития опухоли.

Одним из важнейших звеньев организменной регуляции является нейро-эндокринная система. Ее влияние осуществляется благодаря прямой и обратной связи гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, гонадной и тиреоидной оси, затрагивая при этом абсолютно все аспекты жизнедеятельности организма.

Целью исследования явилось изучение уровня основных стероидных, тропных гормонов гипофиза и релизинг-факторов гипоталамуса, а также системы факторов роста и их рецепторов, участвующих в неоангио- и неолимфогенезе, в динамике развития перевивной меланомы В16.

Материалы и методы. Работа выполнена на самцах мышей линии С57BL/6 (n=40), 8 недельного возраста с начальной

массой 24–26 г. В эксперименте использовали клеточную линию мышинной, метастазирующей в легкие меланомы В16/ F10. Культура клеток меланомы В16/ F10 была предоставлена РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (г. Москва). Перевивка меланомы В16 производилась по стандартным методикам. Семенники, надпочечники, опухоль, перифокальную зону и кожу, гипоталамусы и гипофизы выделяли сразу после декапитации. Стандартными ИФА методами в гомогенатах тканей определяли уровень: холестерина, кортизола, эстрадиола – Е 2, эстриола – Е 3, тестостерона – Тобщ и свободного, прогестерона (Р4), пролактина (ПРЛ), эстрогена Е 1, 17оксипрогестерона – 17ОНР, ЛГ, ФСГ, ЛГ-релизинг, ПРЛ-релизинг, гонадотропный-релизинг гормон, VEGF-A, VEGF-C, VEGF-R1, VEGF-R2.

Результаты исследований представлены на 1-ю, 2-ю и 3-ю недели после перевивки опухоли В16/ F10, когда вес опухоли достигали в среднем 115,7 мг, 4089,3 мг и 5990 мг соответственно. В ходе эксперимента было обнаружено повышение уровня эстрогена и пролактина в опухоли и окружающих ее тканях, на фоне снижения общего и свободного тестостерона, эстриола и прогестерона на этапах развития перевивной меланомы у мышей. С прогрессией меланомы, обнаруженные гормональные нарушения усугублялись. Однако вопрос источника эстрогенов в опухоли и окружающих ее тканях остается открытым.

Основными органами, участвующими в продукции и метаболизме стероидов самцов млекопитающих является кора надпочечников и семенники. Установлено, что в стероидогенезе, осуществляемом надпочечниками, под влиянием развивающейся меланомы произошел ряд изменений: в первую неделю вырос уровень кортизола, с максимальным содержанием в надпочечниках ко второй неделе. Во вторую неделю эксперимента в надпочечниках увеличилась концентрация холестерина, усилился синтез прогестерона и повысился уровень 17оксипрогестерона, с последующим истощением к 3-й недели.

В семенниках мышей с меланомой В16/ F10 уровень общего Т не отличался от показателей у интактных животных, однако свободная форма андрогена возросла на протяжении всего эксперимента – более чем в 3000 раз, по сравнению с показателями в интактных семенниках. Регуляция стероидогенеза в периферических органах, осуществляется гипофизом, в тканях которого выявлен рост в 4 раза уровня ЛГ, начиная со второй недели эксперимента и в 4 раза ФСГ, к 3-й недели эксперимента.

Известно, что нарушение гомеостаза при злокачественном росте часто связывают с повышением порога чувствительности гипоталамических структур к сигналам периферических органов. В тканях гипоталамуса установлено снижение в 1,5–2,5 раза уровня гонадотропного-релизинга и ЛГ-релизинга начиная с 1 недели роста опухоли, и ПРЛ- релизинг гормона начиная со второй недели опухолевого роста.

Учитывая тот факт, что стероидные гормоны являются активными стимуляторами пролиферации и при этом участвуют в регуляции экспрессии факторов роста и их рецепторов, нарушения в гормоногенезе неизбежно влечет за собой изменения в системе факторов роста. Любая опухоль для своего роста и развития нуждается в доставке питательных веществ и кислорода, для чего необходимы процессы неоангиогенеза. В опухоли и окружающих ее тканях установлена значительная активация факторов неоангио- и неолимфогенеза на первых сроках выхода опухоли. Это выражалось в существенном повышении уровня VEGF-A, VEGF-C, а также их рецепторов R1 и R2.

МЕЛАНОМА

На всех этапах эксперимента насыщенность опухоли и/или перифокальной зоны факторами роста и их рецепторами превалировала над неповрежденной кожей, что можно связать с аутокринным действием системы факторов роста. В динамике роста перевивной меланомы установлено стадийное изменение насыщенности факторами роста не только опухоли, но и тканей ее окружающих. На заключительном этапе роста меланомы активность системы ростовых факторов в неоплазме не претерпевает дальнейших превращений, более значимые изменения проходят в окружающем опухоль регионе.

Заключение. Одним из выявленных патогенетических моментов роста перевивной меланомы B16/F10 явилось изменение стероидогенеза, вызванное нарушением чувствительности гипоталамо-гипофизарной системы, что привело к дисбалансу соотношения андрогенов, эстрогенов и прогестерона, с превалированием эстрогена в опухолевой ткани.

Изменение стероидного равновесия в тканях, в свою очередь оказало влияние на регуляцию системы факторов роста. В эксперименте выявлена активация неоангио-, нелимфогенеза и васкулогенной мимикрии посредством увеличения экспрессии VEGF и его рецепторов не только непосредственно в опухоли, но и в окружающих ее тканях, зависящая от этапов роста и развития перевивной меланомы B16/F10.

Рандомизированное исследование II фазы по оценке применения дакарбазина в сочетании с мелатонином или метформином по сравнению с монотерапией дакарбазином в качестве 1 линии терапии диссеминированной меланомы кожи: первый промежуточный анализ результатов

Новик А. В., Проценко С. А., Балдуева И. А., Анисимов В. Н., Берштейн Л. М., Ткаченко Е. В., Семизлазова Т. Ю.

Место работы: ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, e-mail: anovik@list.ru

В настоящее время в НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова накоплены данные о возможности использования мелатонина и метформина в качестве средств, устраняющих гормонально-метаболические нарушения, ассоциированные с возникновением метаболической иммунодепрессии при опухолевом процессе. Данные литературы свидетельствуют о возможности сочетанного использования препаратов с различным механизмом действия при меланоме.

Целью данного исследования является оценка эффективности и безопасности применения комбинаций препарата эпифиза мелатонина с дакарбазином или антидиабетического бигуанида метформина с дакарбазином по сравнению с монотерапией дакарбазином.

Материалы и методы. С 03.2014 по 15.05.2015 в исследование включено 20 больных диссеминированной меланомой кожи, ранее не получавших лекарственного лечения по поводу метастатической болезни. Средний возраст больных составил 66 (от 31 до 73) лет. В исследование включено 4 (20%) мужчин, 16 (80%) женщин. У 1 (5%) больного была M1a стадия, у 3 (15%) – M1b, у 16 (80%) – M1c.

Больные получали дакарбазин 1000 мг/м² внутривенно в течение 1–1,5 в 1 день 28-дневного цикла в виде монотерапии (группа 1) или в сочетании с терапией мелатонином 3 мг внутрь перед сном ежедневно (группа 2) или в сочетании с метформи-

ном 850 мг 2 раза в день внутрь ежедневно (группа 3). Оценка эффективности производилась по критериям RECIST 1.1, оценка нежелательных явлений (НЯ) – по критериям NCICTCAEv.4. Оценка времени до прогрессирования (ВДП) проводилась от начала лечения до первых признаков прогрессирования процесса, общей выживаемости (ОВ) – от начала терапии до смерти больного от любой причины. Медиана наблюдения за больными составила 80 дней.

Результаты. Рандомизировано 17 больных: 5 в 1-ую группу, 6 – во вторую и 6 – в третью. 2 больных находятся в скрининге, 1 – выбыл из исследования из-за повышения уровня трансаминаз.

Проведено 64 цикла терапии: 24 – в 1-й группе, 18 – во второй, 22 – в третьей. Серьезных НЯ не было. Осложнения 3 ст. наблюдались у 1 больного в группе 2 (пневмония, дыхательная недостаточность) и в группе 3 (нейтропения). НЯ 1–2 ст. наблюдались только во 2-й и 3-ей группах и были представлены тошнотой, рвотой, повышением трансаминаз, снижением веса и анемией. 13 из 24 циклов (54%, 95% ДИ 34–74%) в 1 группе, 2 из 18 (11%, 95% ДИ 1–29%) во второй и 10 из 22 (45%, 95% ДИ 25–66%) в третьей группе прошли без НЯ. Несмотря на статистически значимую тенденцию к большей частоте осложнений во 2 группе, клинически значимых различий в профиле безопасности не наблюдалось.

Объективный ответ оценен у 14/20 больных: 7 пациентов в 1-й группе, 2-во второй и у 5- в третьей. В 1 группе у 1 больного отмечена стабилизация процесса, у остальных – прогрессирование заболевания. У 1 из 2 больных в группе 2 выявлен полный регресс, развившийся после 12 циклов терапии. У данной пациентки лечение дакарбазином завершено после 14 циклов, лечение мелатонином продолжается.

Длительность лечебного эффекта составляет 15+ мес. В 3-ей группе у 1 больной выявлен частичный регресс, длительностью 5 мес. Интересно отметить, что после прогрессирования процесса больная продолжила прием метформина, что вызвало стабилизацию процесса в течение еще 5+ мес. Это может свидетельствовать о наличии иммунологического компонента в действии метформина, приводящего к отсроченному развитию эффекта терапии.

Медиана времени до прогрессирования в 1-й группе составила 39 дней, во 2-й – не достигнута, в 3-ей – 63 дня.

Заключение. Сочетание дакарбазина с мелатонином или метформином удовлетворительно переносится больными и не приводит к значимому повышению частоты нежелательных явлений. По предварительным результатам, комбинированная терапия может оказаться более эффективной, чем монотерапия дакарбазином. Исследование продолжено.

Варианты локальных и системных осложнений изолированной химиотерапевтической гипертермической перфузии конечностей

Харатишвили Т. К., Мартынов Д. В., Буйденко Ю. В., Петроченко Н. С.

Место работы: РОНЦ им. Н. Н. Блохина, г. Москва, РФ e-mail: generaloncology@rambler.ru

Цель. Оценка осложнений изолированной химиотерапевтической перфузии конечностей в РОНЦ РАМН.

Материалы и методы. В 2010–2015 гг. в РОНЦ РАМН получали лечение с использованием данного метода 42 больных.

МЕЛАНОМА

Средний возраст $49 \pm 16,7$ лет (диапазон 21–79). Женщины – 33 (78,6%), мужчины – 9 (21,4%). Пациентам проводилась перфузия на бедренном ($n = 37$) и подмышечном ($n = 5$) уровне. С диагнозом меланомы – 23 случая (Stage IIIB, IIIC) и саркомы мягких тканей – 19 случаев (с большими, рецидивирующими или множественными опухолями). Перфузия выполнялась при умеренной гипертермии.

Контроль утечки химиопрепарата из изолированной конечности в систему общей гемокциркуляции проводили методом динамической радиометрии. Уровень сброса в системный кровоток во время операции не превышал 6% (в среднем 0,5–2%). Осложнения изолированной химиотерапевтической перфузии конечностей проявлялись в виде местной токсичности в изолированном регионе, системной токсичности, интра- и послеоперационных осложнений, связанных непосредственно с хирургическим этапом.

Оценка степени локальной токсичности проводилась по шкале Wieberdink. При первых двух уровнях отмечается умеренная гиперемия, отек. С третьего уровня нарастает поражение глубоких тканевых структур. При пятом уровне токсичности выполняется ампутация конечности. Оценка системной токсичности проводилась по шкалам NCI–CTC.

Результаты. Медиана наблюдения составила – 21 месяц (в диапазоне от 1–57 месяцев). Объективный ответ был отмечен у 20 (86,9%) пациентов с меланомой, CR – 6 (26%), PR – 14 (60,9%), SD – 3 пациента. Объективный ответ был отмечен у 16 (84,2%) пациентов с саркомой, CR – 4 (21%), PR – 12 (63,2%), SD – 3 пациента.

В нашем исследовании была отмечена локальная токсичность не выше 2 уровня (умеренные гиперемия и отек конечности). Ни у одного из пациентов не было системной токсичности вследствие низкого уровня сброса (не более 6%) из изолированной конечности в системный кровоток. Интраоперационные осложнения были отмечены у двух пациентов и были связаны с выраженным атеросклерозом сосудов, а также рубцовыми изменениями тканей в зоне предшествующих оперативных вмешательств.

Вывод. При применении изолированной химиотерапевтической перфузии не отмечается значительных локальных и системных побочных эффектов, наблюдается низкий уровень интра- и послеоперационных осложнений. Введение высоких доз химиопрепаратов при изолированной перфузии конечности возможно с хорошим результатом без значительных местных и системных побочных эффектов (до 86,9% объективных ответов в группе больных с меланомой, до 84,2% объективных ответов в группе больных с саркомой). Уровень сохранности конечности 97,6%.

Результаты непрерывного мониторинга с мечеными *in vivo* ^{99m}Tc эритроцитами при гипертермической изолированной перфузии конечности

Мартынов Д. В., Наркевич Б. Я., Буйденко Ю. В., Петроченко Н. С., Харатишвили Т. К.

Место работы: РОНЦ им. Н. Н. Блохина, г. Москва, РФ
e-mail: generaloncology@rambler.ru

Цель. Оценка клинической значимости непрерывного мониторинга с мечеными *in vivo* ^{99m}Tc эритроцитами у пациентов, получавших гипертермическую изолированную перфузию конечности

Материалы и методы. Изолированная регионарная химиотерапевтическая перфузия, по данным зарубежных исследований, является эффективным методом при метастазах меланомы и саркомах мягких тканей конечностей. На лечении в РОНЦ РАМН в 2010–2015 гг. находилось 42 пациента. 23 пациента с меланомой и 19 с саркомой мягких тканей конечности подверглись 42 перфузиям. Перфузии проводили на бедренном уровне в 37 случаях, на уровне подмышечной артерии в 5 случаях. Радионуклидный контроль сброса в системный кровоток из замкнутого контура химиопрепарата в ходе перфузии осуществлялся путём неинвазивной динамической радиометрии в проекции сердца. Из-за отсутствия серийного производства РФП на основе альбумина, в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН используется методика меченых *in vivo* эритроцитов.

Для этого до наложения жгута в общую циркуляцию вводится раствор пирфотеха, а после наложения жгута в перфузионный контур и системный кровоток вводится РФП ^{99m}Tc -пертехнетат. Химиопрепарат вводится только после стабильной изоляции кровотока. Показатели сброса, системные гематологические и метаболические профили и ответ опухоли были определены во время операции.

Результаты. При проведении изолированной регионарной химиотерапевтической перфузии конечности 42 больным с использованием вышеуказанной методики отмечался четкий контроль уровня сброса, который во время операции не превышал 6% (в среднем 0,5–2%). Сброс в системный кровоток был $< \text{или} = 2\%$ в 33 перфузиях и $> 2\%$ в 9 перфузиях. Никаких существенных различий в реакции опухоли не было обнаружено между группами. В группе $> 2\%$ сброса, отмечалось некоторое снижение уровня лейкоцитов и тромбоцитов, повышение билирубина, протениемия. Не было отмечено положительного влияния сброса в системный кровоток мелфалана на частоту возникновения отдаленных метастазов в течение периода наблюдения. Уровень производимой изоляции конечности взаимосвязан с количеством сброса из контура перфузии.

Вывод. Измерение сброса в системный кровоток служит хорошим ориентиром для эффективности изоляции во время перфузии. Рассматриваемая методика с применением меченых *in vivo* ^{99m}Tc эритроцитов позволяет уверенно контролировать степень изоляции оперируемой конечности для возможности проведения химиотерапии в ее пределах.

Хлорокин потенцирует цитотоксичность темозоломида *in vitro* на клеточных линиях метастатической меланомы

Рябая О. О.^{1,2}, Егорова А. В.², Степанова Е. В.¹

Место работы: 1. ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва; 2. ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, г. Москва
e-mail: oxa2601@yandex.ru

Цель. Несмотря на успехи в лечении метастатической меланомы (ММ) кожи и увеличение продолжительности жизни пациентов, прогноз течения болезни остается неблагоприятным. Медиана выживаемости больных ММ составляет 8–10 месяцев в разных клинических исследованиях. Поэтому поиск новых тактик и комбинаций лечения меланомы является актуальным. Хлорокин – ингибитор аутофагии – показал свою активность при ряде злокачественных новообразований в доклинических исследованиях как в монорежиме, так и при включении

МЕЛАНОМА

в стандартные схемы лечения. В данном исследовании мы изучили влияние хлорокина, а также ингибитора образования аутофагосом (LY-294002) на цитотоксичность темозоломида (TMZ) на клеточных линиях ММ кожи человека *in vitro*.

Материалы и методы. В работе были использованы 4 клеточные линии ММ, полученные от пациентов с различным онкогенным статусом гена B-RAF, находившихся на лечении в РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Для оценки цитотоксичности использовали МТТ тест, проточную цитометрию, иммуноцитохимию. Модуляцию активности аутофагии проводили за счет трансфекции миРНК клеточных линий аутофаго-ассоциированных белков, либо при использовании ингибиторов аутофагии: хлорокина (Sigma, США) и LY-294002 (Sigma, США).

Результаты. Для изучения влияния хлорокина на цитотоксичность химиопрепарата, TMZ был взят в нетоксических концентрациях (100 и 200 мкМ). МТТ тестом было показано, что хлорокин потенцирует действие TMZ, увеличивая гибель клеток ММ в среднем на 20%. Стоит отметить, что клетки с мутантным статусом B-RAF оказались более чувствительными к комбинации препаратов. Анализ запуска апоптоза оценивали окрашиванием аннексином V и пропидия йодидом цитометрически после 24-часовой инкубации с препаратами. Апоптотическая активность TMZ в концентрации 500 мкМ была примерно одинаковой у всех клеточных линий, вне зависимости от статуса гена B-RAF и варьировала в пределах 3–8%. Анализ индукции апоптоза под действием хлорокина показал его увеличение до 17,5±2,9% у B-RAV600 клеток, но его уровень практически не менялся у клеток дикого типа 5,2±3%.

Иммуноцитохимически было показано, что комбинация хлорокина и TMZ увеличивала количество белка LC3B (маркера уровня аутофагосом) по сравнению с контролем и препаратами в монорежиме. Ингибирование аутофагии за счет миРНК снижало токсическое действие на клетки ММ самого хлорокина. Добавление ингибитора образования аутофагосом – LY-294002 – также увеличивало токсичность TMZ, но не влияло на действие хлорокина. При этом коинкубация клеток с 2 ингибиторами приводила к увеличению цитотоксичности TMZ: выживаемость клеток ММ уменьшалась с 80% до 30%. Таким образом, можно предположить, что аутофагия предохраняет клетки от темозоломид-индуцированной цитотоксичности.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют, что хлорокин ингибирует аутофагию в меланомных клетках и повышает их химиочувствительность к темозоломиду. Перспективным можно считать и другой ингибитор аутофагии с иным механизмом действия – LY-294002. Данные комбинации требуют дальнейшего изучения, в том числе в опытах *in vivo*.

Иммунотерапия на основе аутологичных костномозговых дендритных клеток (ДК) в сочетании с фотодинамической терапией (ФДТ) и циклофосфамидом (ЦФ) у больных диссеминированными солидными опухолями, резистентных к стандартным методам лечения

Балдуева И.А., Новик А.В., Карицкий А.П., Нехаева Т.Л., Гельфонд М.Л., Проценко С.А., Данилова А.Б., Комаров Ю.И., Семёнова А.И., Латипова Д.Х., Пипиа Н.П., Евдокимова Т.А., Комарова Ю.А., Кривокрыотов Л.А., Беляев А.М.
Место работы: ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург, Россия

e-mail: biahome@mail.ru

Цель. Изучить клиническую эффективность активной специфической иммунотерапии у больных диссеминированными солидными опухолями, резистентных к стандартным методам лечения.

Материалы и методы. В исследование включено 20 больных, средний возраст 45,6 (42–50) лет. 18 пациентов меланомой кожи [стадия заболевания M1 (неуточненная) – 2; M1a – 1; M1b – 1; M1c – 14]; 2 пациента саркомами мягких тканей (M1 неуточненная). Больным проводили мобилизацию миелоидных предшественников ДК из костного мозга в периферическую кровь с помощью гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (5 мкг/кг массы тела подкожно в течение 4–5 дней), операцию афереза, дифференцировку ДК в течение 5 дней в безсывороточной сбалансированной питательной среде «CellGro DC» (CellGenix, Германия) в присутствии гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (72 нг/мл, Фармсинтез, Россия) и интерлейкина-4 (45 нг/мл, CellGenix, Германия),

сеанса фотодинамической терапии и 5-дневного цикла внутритрухлевого введения аутологичных ДК (106/кг массы тела пациента) в предварительно ФДТ-облученный метастатический очаг. Для элиминации Т-лимфоцитов с иммуносупрессирующей активностью за 3 дня до начала лечения вводили ЦФ в дозе 300 мг внутримышечно. Интервал между циклами – 14 дней. Оценивалась частота объективных ответов по RECIST1.0, частота нежелательных явлений по NCI CTC v.3, время до прогрессирования (ВДП), общая выживаемость (ОВ), 1-летняя ОВ.

Результаты. 8 пациентов получили 1 цикл терапии, 12 больных >1 цикла. Оценка клинической эффективности произведена у больных, получавших >1 цикла иммунотерапии. Нежелательные явления (НЯ), НЯ 4 ст. не наблюдались. НЯ 3 ст. представлены: усилением болевого синдрома у 4 больных; лихорадкой у 9 пациентов; у одного больного отмечалось обострение ишемической болезни сердца на фоне лечения, связь которого с иммунотерапией представляется маловероятной, но не может быть полностью исключена; лейкоцитоз у 1 пациента.

НЯ 1–2 ст. представлены реакциями, которые не требовали симптоматической терапии (гриппоподобный синдром, болевой синдром, миалгия, артралгия, болезненность и отечность в местах введения ДК, гипотония, повышение уровня АЛТ, АСТ, билирубина, аллергические реакции, зуд. У двух больных НЯ не зарегистрированы.

У 58% больных зарегистрирован клинический эффект: полный регресс не отмечен, частичный регресс у 2/10 пациентов меланомой кожи и у 1/2 больного саркомой мягких тканей после 4 линий лекарственного лечения; стабилизация заболевания у 4/10 больных (40%; 95% ДИ) меланомой кожи. Прогрессирование заболевания у 4/10 (40%; 95% ДИ) пациентов меланомой кожи и у 1/2 больного саркомой мягких тканей. ВДП 108 дней (3,5 мес) в группе больных меланомой кожи и 89 дней (2,9 мес) у 1/2 пациентов саркомой мягких тканей. В группе больных меланомой кожи медиана ОВ 484 дня (15,9 мес); у пациента саркомой мягких тканей – не достигнута. 1-летняя ОВ зарегистрирована у 42,8% пациентов меланомой кожи и у 1/2 пациентов саркомами мягких тканей.

Заключение. Иммунотерапия на основе аутологичных костномозговых ДК в сочетании с ФДТ и ЦФ: 1) не сопровождается серьезными НЯ 4 ст., НЯ 3 ст. зарегистрированы у 45% пациентов; 2) оказывает клинически значимый противоопу-

МЕЛАНОМА

холевой эффект у пациентов, резистентных к стандартным методам лечения, 1-летняя ОВ зарегистрирована у 42,8% больных меланомой кожи и у одного больного саркомой мягких тканей после 4-х линий лекарственного лечения.

Трансартериальная химиоэмболизация при метастазах меланомы в печени

Долгушин Б. И., Косырев В. Ю., Мартынков Д. В., Демидов Л. В., Утяшев И. А., Орлова К. В.

Место работы: РОНЦ им. Н. Н. Блохина, г. Москва, РФ
e-mail: generaloncology@rambler.ru

Цель. Оценка выживаемости больных с метастазами меланомы в печени при проведении трансартериальной химиоэмболизации (ТАХЭ)

Материалы и методы. В РОНЦ им. Н. Н. Блохина в 2000–2015 годах получали лечение 44 пациента с метастазами меланомы в печени. Из них: мужчины – 19 (60%), женщины – 25 (40%). Средний возраст $45,12 \pm 13,22$ лет, диапазон 23–71 лет. При этом у 31 пациента локализация первичной опухоли – хориоидея глаза, у 13 больных – кожа туловища или конечностей. Лечение первичной опухоли было в основном хирургическим. Всем 13 пациентам с меланомой кожи было выполнено иссечение опухоли различного объема. В группе больных с увеальной меланомой было произведено 19 энуклеаций глаза, а в 12 случаях – брахитерапия. Адювантное лечение по поводу первичного очага было у 10 пациентов с меланомой хориоидеи и у 5 с меланомой кожи. Время после этого до момента появления метастатических очагов в печени было от 1 до 216 месяцев, медиана – 23 месяца.

Всем 44 пациентам проводилась ТАХЭ, кроме того 22 больным с увеальной меланомой и 6 с меланомой кожи дополнительно было назначено химиоиммунотерапевтическое лечение. В зависимости от объема поражения и характера кровоснабжения опухолей больным выполнялось от 1 до 5 ТАХЭ. Всего было выполнено 79 вмешательств. При меланоме кожи в 9 случаях была одна ТАХЭ, в 4 случаях – две.

При увеальной меланоме – у 13 пациентов одна ТАХЭ, у 11 – две, у 3 – три, у 2 – четыре и у 2 – пять ТАХЭ. Используемый материал у 44 пациентов: липиодол в 64 случаях (у некоторых пациентов были использованы комбинации эмболизирующих материалов), микросферы – в 22 случаях (размеры частиц варьировали от 100 до 500 мкм). В качестве химиопрепарата выступал доксорубин, гемзар или карбоплатин.

Результаты. В 100% случаев ТАХЭ была технически успешной. Пациентам вводилась химиоэмболизирующая смесь в питающие опухоль сосуды. Клинический ответ в виде уменьшения опухолевых узлов или стабилизации наблюдался у 29 (66%) больных из общей группы, у 21/31 с увеальной и в 8/13 случаев кожной меланомы. Период наблюдения за пациентами после проведенной ТАХЭ был от 2 до 70 месяцев. Медиана наблюдения в целой группе – 9,7 мес. В группе меланомы кожи – 8 мес. Общая 1-летняя выживаемость $51,52 \pm 12,4\%$. При увеальной меланоме – 6 мес. Общая 1-летняя выживаемость $40,8 \pm 16,7\%$. Постэмболизационный синдром отмечен у большинства пациентов, выраженных интра или постоперационных осложнений не было.

Вывод. Трансартериальная химиоэмболизация у больных с метастазами кожной или увеальной меланомы в печени – эффективный и хорошо переносимый метод лечения. Проведение нескольких ТАХЭ для тщательной эмболизации питающих

артерий, особенно при наличии множества коллатералей, необходимо для достижения адекватного клинического ответа.

Результаты непрерывного мониторинга с мечеными in vivo 99mTc эритроцитами при гипертермической изолированной перфузии конечности

Мартынков Д. В., Наркевич Б. Я., Буйденко Ю. В., Петроченко Н. С., Харатишвили Т. К.

Место работы: РОНЦ им. Н. Н. Блохина, г. Москва, РФ
e-mail: generaloncology@rambler.ru

Цель. Оценка клинической значимости непрерывного мониторинга с мечеными in vivo 99mTc эритроцитами у пациентов, получавших гипертермическую изолированную перфузию конечности

Материалы и методы. Изолированная регионарная химиотерапевтическая перфузия, по данным зарубежных исследований, является эффективным методом при метастазах меланомы и саркомах мягких тканей конечностей. На лечении в РОНЦ РАМН в 2010–2015 гг. находилось 42 пациента. 23 пациента с меланомой и 19 с саркомой мягких тканей конечности подверглись 42 перфузиям. Перфузии проводили на бедренном уровне в 37 случаях, на уровне подмышечной артерии в 5 случаях. Радионуклидный контроль сброса в системный кровоток из замкнутого контура химиопрепарата в ходе перфузии осуществлялся путём неинвазивной динамической радиометрии в проекции сердца. Из-за отсутствия серийного производства РФП на основе альбумина, в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН используется методика меченых in vivo эритроцитов.

Для этого до наложения жгута в общую циркуляцию вводится раствор пирфотеха, а после наложения жгута в перфузионный контур и системный кровоток вводится РФП 99mTc-пертехнетат. Химиопрепарат вводится только после стабильной изоляции кровотока. Показатели сброса, системные гематологические и метаболические профили и ответ опухоли были определены во время операции.

Результаты. При проведении изолированной регионарной химиотерапевтической перфузии конечности 42 больным с использованием вышеуказанной методики отмечался четкий контроль уровня сброса, который во время операции не превышал 6% (в среднем 0,5–2%). Сброс в системный кровоток был $\leq 2\%$ в 33 перфузиях и $> 2\%$ в 9 перфузиях. Никаких существенных различий в реакции опухоли не было обнаружено между группами.

В группе с $> 2\%$ сброса, отмечалось некоторое снижение уровня лейкоцитов и тромбоцитов, повышение билирубина, протейнемия. Не было отмечено положительного влияния сброса в системный кровоток мелфалана на частоту возникновения отдаленных метастазов в течение периода наблюдения. Уровень производимой изоляции конечности взаимосвязан с количеством сброса из контура перфузии.

Вывод. Измерение сброса в системный кровоток служит хорошим ориентиром для эффективности изоляции во время перфузии. Рассматриваемая методика с применением меченых in vivo 99mTc эритроцитов позволяет уверенно контролировать степень изоляции оперируемой конечности для возможности проведения химиотерапии в ее пределах.

ДЕТСКАЯ ОНКОЛОГИЯ

Отдалённые последствия лечения медуллобластомы в детском и юношеском возрасте: влияние на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему

Юдина А. Е.¹, Целовальникова Т. Ю.¹, Павлова М. Г.¹, Котляревская Е. Ю.¹, Мазеркина Н. А.², Желудкова О. Г.³, Арефьева И. А.²
Место работы: 1. ГБОУ ВПО Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва; 2. НИИ Нейрохирургии им. академика Н.Н. Бурденко, г. Москва; 3. ФГБУ РНЦПР Минздрава РФ, г. Москва.
e-mail: alla1301@yandex.ru

Цель. Изучить отдалённые последствия комплексного лечения медуллобластомы (МБ) в детском и подростковом возрасте на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось.

Материалы и методы. Обследовано 26 пациентов (13 мужчин и 13 женщин), перенесших лечение МБ в детском и подростковом возрасте по протоколу М-2000 (оперативное лечение, полиохиомиотерапия (ПХТ), краниоспинальное облучение (КСО): 35–36 Гр, буст на заднюю черепную ямку 55 Гр). Средний возраст пациентов составил 19±3 лет (15–27), средний возраст на момент лечения – 10,8±3,5 (3–15), время ремиссии – 8,7±4,7 (2–20).

В группу сравнения вошли 11 здоровых добровольцев (5 мужчин, 6 – женщин) в возрасте от 21 до 30 лет (средний возраст 25±3). Всем пациентам проводился сбор анамнеза, физикальное обследование, исследование базального АКТГ, кортизола, ДГАЭС, тест с инсулиновой гипогликемией (ТИГ) с определением уровня АКТГ и кортизола на 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 минут. Вторичная надпочечниковая недостаточность диагностировалась (ВНН) при уровне кортизола на пике гипогликемии <550 нмоль/л.

Данные представлены в виде: $M \pm m$ (min, max) (для распределений, близких к нормальному), где M – среднее арифметическое, m – среднеквадратическое отклонение, min – минимальное значение, max – максимальное значение, и Me [25,75], где Me – медиана, [25- перцентиль; 75- перцентиль]; ДИ – доверительный интервал, p – уровень достоверности, r – коэффициент корреляции.

Результаты. При проведении ТИГ у пациентов после комплексного лечения МБ ВНН выявлена у 13 человек – 50,0% (ДИ: 33,4% – 66,6%).

В группе пациентов без ВНН исходно АКТГ- $Me=28,9$ [17,7;38,4], кортизол- $Me=568$ [374;688], ДГАЭС- $Me=5,95$ [5,4;6,51]; на пике гипогликемии: АКТГ- $Me=42$ [30;60], кортизол- $Me=629$ [593;685].

У пациентов с ВНН определялись следующие параметры: исходно АКТГ- $Me=16,5$ [10;34], кортизол- $Me=359$ [271;388], ДГАЭС- $Me=3,1$ [2,5;4,5]; на пике гипогликемии: АКТГ- $Me=24,85$ [14;62,6], кортизол- $Me=447$ [343;475].

В группе сравнения: исходно АКТГ- $Me=11,5$ [8,8;25], кортизол- $Me=363$ [214;602], ДГАЭС- $Me=5,3$ [3,5;8,5]; на пике гипогликемии: АКТГ- $Me=36,9$ [27,7;115], кортизол- $Me=629$ [550;666].

Таким образом у пациентов без ВНН выявлено статистически значимое увеличение уровня базального АКТГ ($p=0,02$) и кортизола ($p=0,05$) по сравнению со здоровыми добровольцами; достоверного различия в уровне данных гормонов у пациентов с ВНН и группы контроля не обнаружено.

Уровень ДГАЭС у пациентов с ВНН оказался достоверно ниже, чем у пациентов без ВНН и здоровых добровольцев ($p=0,019$). При корреляционном анализе выявлена сильная досто-

верная связь между наличием ВНН и уровнем базального кортизола ($r=0,539$, $p=0,005$) и очень сильная достоверная связь с уровнем ДГАЭС ($r=0,77$, $p=0,005$). Зависимости развития ВНН от пола, возраста на момент постановки диагноза, продолжительности ремиссии, количества курсов ПХТ обнаружено не было.

Выводы.

1. После комплексного лечения МБ у половины пациентов (50%, ДИ: 33,4% – 66,6%) развивается ВНН.
2. В группе обследованных с ВНН уровень ДГАЭС достоверно ниже по сравнению с пациентами без ВНН и здоровыми добровольцами, что может быть использовано как метод скрининга для диагностики ВНН.
3. У пациентов без ВНН отмечается более высокий уровень базальных АКТГ и кортизола по сравнению со здоровыми. Средний возраст пациентов составил 19±3 лет (15–27), средний возраст на момент лечения – 10,8±3,5 (3–15), время ремиссии – 8,7±4,7 (2–20). В группу сравнения вошли 11 здоровых добровольцев (5 мужчин, 6 – женщин) в возрасте от 21 до 30 лет (средний возраст 25±3). Всем пациентам проводился сбор анамнеза, физикальное обследование, исследование базального АКТГ, кортизола, ДГАЭС, тест с инсулиновой гипогликемией (ТИГ) с определением уровня АКТГ и кортизола на 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 минут. Вторичная надпочечниковая недостаточность диагностировалась (ВНН) при уровне кортизола на пике гипогликемии <550 нмоль/л.

Данные представлены в виде: $M \pm m$ (min, max) (для распределений, близких к нормальному), где M – среднее арифметическое, m – среднеквадратическое отклонение, min – минимальное значение, max – максимальное значение, и Me [25,75], где Me – медиана, [25- перцентиль; 75- перцентиль]; ДИ – доверительный интервал, p – уровень достоверности, r – коэффициент корреляции.

Изменение содержания транскрипционных факторов, ростового фактора VEGF и его рецептора у больных почечно-клеточным раком в нормальной, трансформированной почечной паренхиме и в ткани метастазов

Спирина Л. В.^{1,2}, Усынин Е. А.¹, Слонимская Е. М.^{1,2}, Кондакова И. В.¹, Юрмазов З. А.¹

Место работы: 1. Томский научно-исследовательский институт онкологии; 2. ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» МЗ РФ
e-mail: spirinalv@oncology.tomsk.ru

Цель. Изучение молекулярных особенностей метастазирования светлоклеточного почечноклеточного рака.

Материалы и методы. В исследование было включено 93 больных почечно-клеточным раком T1–2N0–1M0–1, которые были разделены на группы больных с локализованным (T1–2N0M0), местнораспространенным (T3–4N0M0) и диссеминированным заболеванием (T3–4N1M1). Было изучено содержание транскрипционных факторов NF- κ B p50, NF- κ B p65, HIF-1, ростового фактора VEGF, его рецептор VEGFR2 в ряду нормальной почечной паренхимы, ткани опухоли локализованного, местно-распространенного, диссеминированного рака почки и ткани метастазов. Молекулярные показатели были исследованы методом ИФА.

ОНКОУРОЛОГИЯ

Результаты. В ткани нормальной почечной паренхимы содержание VEGF и VEGFR2 составляло 10,28 (8,46–14,3) и 39,64 (22,3–48,8) пг/мг белка, HIF-1–0,98 (0,62–1,18), NF-kB p50–4,16 (3,76–4,66), а NF-kB p65–4,88 (4,66–5,21) УЕ/мг белка в лунке. В опухоли локализованного рака почки наблюдалось увеличение уровня ростового фактора VEGF в 5,2 раза, а также транскрипционных факторов HIF-1 – в 4,8; NF-kB p50 – в 1,8 и NF-kB p65–1,6 раза по сравнению с нормальной почечной паренхимой.

При этом высокое содержание данных молекулярных показателей было зафиксировано также в опухоли почки при метастазно-распространенной и диссеминированной форме заболевания. Стоит отметить, что увеличение содержания VEGFR2 в опухоли было выявлено только у больных с диссеминированным раком почки в 1,6 раза по сравнению с его уровнем в ткани нормальной почечной паренхимы.

В метастазах опухоли содержание ростового фактора VEGF оставалось высоким, что соответствовало уровню показателя в первичной опухоли. Значительное повышение уровня VEGFR2 в 2,3 раза отмечено в ткани метастазов по сравнению с опухолевой тканью диссеминированного рака почки. Также выявлено снижение содержания транскрипционного фактора HIF-1 в 3 раза в метастазах по сравнению с опухолевой тканью, однако его уровень был выше в 1,7 раза в сравнении с нормальной почечной паренхимой.

Значимых изменений содержания ядерного фактора NF-kB p50 в ткани метастазов выявлено не было. При этом уровень p65 формы ядерного фактора подвергался значительным изменениям: снижался в 2,0 раза в метастазах по сравнению с первичной опухолью и практически не отличался от этого показателя в нормальной почечной паренхиме.

Заключение. У больных с локализованным, местнораспространенным и диссеминированным процессом изучены особенности изменения содержания молекулярных маркеров при метастазировании рака почки. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ № МД-3637.2015.7&

TSPO и функционально связанные с ним белки как предикторы исхода заболевания при почечно-клеточном раке

Зуков Р. А.^{1,2}, Слепов Е. В.², Козлов В. В.³

Место работы: 1. ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск; 2. КГБУЗ КККОД им. А. И. Крыжановского, г. Красноярск; 3. ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, г. Москва

e-mail: zukov_rus@mail.ru

В настоящее время доказано изменение экспрессии белка-транслокатора (TSPO) при ряде злокачественных новообразований (головного мозга, кожи, молочной и предстательной железы, легкого, толстого кишечника, щитовидной железы, печени, надпочечника), однако отсутствуют данные об экспрессии TSPO и функционально связанных с ним белков при почечно-клеточном раке (ПКР).

Цель. Изучить показатели экспрессии белка-транслокатора TSPO и функционально связанных с ним белков CYP450scs, PRAX-1 и ACBD3 в опухолевой и нормальной почечной ткани, а также оценить их влияние на продолжительность жизни больных ПКР.

Материал и методы. Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание неизменной ткани почки (n=20) и опухолевых срезов (n=111) проводили согласно стандартному протоколу с применением двухшаговой полимерной системы визуализации «EnVision+Dual Link System-HRP» (Dako Cytomation, Дания). ИГХ реакцию проводили с антителами: Anti-TSPO polyclonal antibody (Trevigen, Великобритания), Human P450scs (CYP11A1) antibody – (Corgen Inc., Тайвань), Ki-67 Antigen (Dako Cytomation, Дания), Anti-ACBD3 (Abcam, Великобритания), Anti-PRAX-1 (Abcam, Великобритания). Оценку результатов ИГХ окрашивания проводили на основании характера реакции (ядерная / цитоплазматическая), количества положительно окрашенных клеток на 100 опухолевых или неизменных клеток и индекса Hscore, отражающего дифференцировку степени окрашивания клеток.

Микроскопическое исследование и фотографирование проводили с применением светового микроскопа Olympus BX45 (Olympus, Япония) (объективы x4, x10, x20, x40 x63; окуляры x10) с насадкой для фото-, видеодокументации Olympus DP 25 и пакетом программного обеспечения Cell^D.

Для определения предикторов, оказывающих статистически значимое влияние на показатели 5-летней выживаемости, использовался метод регрессионного анализа Кокса.

Результаты. TSPO в контрольной группе (нормальная ткань почки) определялся в 14,9% (13,7%–17,2%) клеток с преимущественной цитоплазматической локализацией. ИГХ индекс Hscore TSPO в группе контроля составил 26,9 (23,9–31,3). В ткани опухоли помимо цитоплазматической локализации TSPO в ряде случаев отмечалась ядерная и перинуклеарная локализация белка. Уровень экспрессии TSPO в опухоли составил 41,2% (33,3%–50,3%), индекс Hscore TSPO – 103,5 (80,0–136,0), что значительно превышало аналогичные показатели в неизменной почечной паренхиме – 26,9 (23,9–31,3), p<0,001.

Учитывая, что гиперэкспрессия TSPO наиболее характерна для опухолей с высоким злокачественным потенциалом, нами исследован уровень экспрессии Ki-67 – наиболее изученного маркера клеточной пролиферации. Установлено повышение более чем в 3 раза экспрессии ядерного протеина Ki-67 в клетках ПКР – 10,0 (5,2–25,4) по сравнению с нормальной тканью почки (3,1 (2,0–4,3)), p<0,001. Однонаправленный характер изменения экспрессии Ki-67 и TSPO, а также появление ядерно-перинуклеарной локализации данного белка, вероятно, свидетельствуют об активном участии белка-транслокатора в процессах клеточной пролиферации трансформированных опухолевых клеток.

Для фермента CYP450scs была характерна цитоплазматическая (митохондриальная) локализация белка как в нормальной почечной ткани, так и в опухолевой. Уровень экспрессии CYP450scs при ПКР составил 64,6% (56,0%–77,5%), индекс Hscore CYP450scs – 119,2 (97,6–152,8), что в 1,5–2 раза было ниже аналогичных показателей в неизменной ткани почки (99 (97,6–100,0) и 247,3 (238,0–259,8) соответственно), p<0,001. Выявленное повышение уровня экспрессии CYP450scs на фоне низкого уровня TSPO+ клеток в нормальной почечной ткани, скорее всего, свидетельствует о том, что в норме большая часть холестерина, транспортируемого TSPO, метаболизируется в прегненолон. Снижение уровня экспрессии CYP450scs в клетках ПКР, наиболее вероятно свидетельствует о подавлении стероидогенеза в опухолевой ткани или о внутриклеточном перераспределении холестерина для пролиферативных нужд опухолевых клеток.

ОНКОУРОЛОГИЯ

ACBD3 является важным звеном сигнального комплекса StAR – PKA1 α – ACBD3 – TSPO, отвечающего за стероидогенез посредством транспортировки холестерина через наружную митохондриальную мембрану. В нормальной почечной ткани и при ПКР выявлен крайне низкий уровень экспрессии и индекс Hscore ACBD3.

Экспрессия PRAX-1 в нормальной и опухолевой ткани почки определялась в 100% случаев и носила цитоплазматический характер. Индекс Hscore PRAX-1 при ПКР составил 170,2 (148,4–201,7), что в 1,6 раза было ниже данного показателя в неизмененной ткани почки 265,3 (255,0–272,5), $p < 0,001$.

Прогностическая значимость изучаемых молекулярных показателей при ПКР оценивалась с помощью регрессии Кокса. В результате исследования в качестве статистически значимых предикторов, оказывающих наибольшее влияние на продолжительность жизни у больных ПКР, были определены: уровень экспрессии TSPO ($p = 0,008$), индекс Hscore TSPO ($p = 0,003$), индекс Hscore CYP450sc ($p = 0,007$) и индекс пролиферации Ki-67 ($p = 0,020$). При этом риск смерти возрастал в случае повышения уровня экспрессии TSPO, индекса Hscore TSPO, индекса пролиферации Ki-67 и снижения индекса Hscore CYP450sc.

Заключение. Таким образом, повышение уровня экспрессии TSPO, индекса Hscore TSPO и индекса пролиферации Ki-67, а также снижение индекса Hscore CYP450sc у больных ПКР ассоциировано с неблагоприятным исходом заболевания.

Оценка прогностической ценности тест-системы для неинвазивного определения уровня экспрессии гена PCA3 при диагностике рака предстательной железы

Тороповский А. Н.¹, Никитин А. Г.², Викторов Д. А.¹, Жмырко Е. В.¹, Гордиев М. Г.³, Пушков А. В.³, Хасанов Р. Ш.³

Место работы: 1. ООО «Джинэкст», Ульяновская обл., Чердаклинский р-н; 2. Федеральный научно-клинический центр ФМБА России, г. Москва; 3. ГАУЗ РКФД МЗ РТ, Республика Татарстан

e-mail: viktorov.da@gmail.com

Цель. Определение относительного уровня экспрессии гена PCA3 и сравнение полученных данных с результатами гистологических исследований, расчёт статистических показателей.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовались осадки мочи, полученной после массажа простаты от пациентов с подозрением на рак предстательной железы. Сбор образцов и пробоподготовка проводились в Республиканском Клиническом Онкологическом Диспансере (г. Казань). Всего было исследовано 56 образцов.

Определение относительного уровня экспрессии гена PCA3 проводилось методом ОТ-ПЦР с последующим расчётом отношения количества мРНК гена PCA3 к мРНК гена KLK3. Работа выполнялась на базе лаборатории молекулярной биологии ООО Джинэкст (г. Ульяновск). Выделение РНК проводилось из всего объёма осадка (50–300 мкл) с использованием набора «Проба–НК» («ДНК–Технология», Москва). После процедуры выделения незамедлительно проводилась реакция обратной транскрипции с использованием набора MMLV RT kit (Евроген, Москва). В качестве затравок использовались случайные 9-мерные праймеры (ДНК-синтез, Москва) в количестве 1,0 мкг на 1 реакцию объёмом 50 мкл, суммарная РНК вносилась в количестве 1–5 мкг. Реакция

обратной транскрипции проводилась при температуре 38 °C в течение 90 мин.

С каждым образцом полученной кДНК ставились ПЦР для одновременного определения количества транскриптов трёх генов: PCA3, KLK3 и COMT. Транскрипт гена PCA3 является маркером рака предстательной железы. Транскрипт гена KLK3 был выбран нами для выравнивания результатов количественного определения транскрипта гена PCA3, поскольку относительно стабильно и специфично экспрессируется в тканях предстательной железы.

Транскрипт гена COMT, являющийся геном домашнего хозяйства, использовался для контроля выделения РНК и прохождения реакции обратной транскрипции. Параллельно для каждой из ПЦР ставились калибровочные (стандартные) образцы, представляющие собой разведения синтетической плазмидной ДНК (Евроген, Москва) с известным количеством копий для контроля прохождения и расчёта эффективности реакции методом калибровочных графиков; и отрицательные контрольные образцы (стерильная деионизированная вода). Для проведения трёх названных ПЦР использовались праймеры и зонды (TaqMan), разработанные научным коллективом ООО Джинэкст с учётом критериев, обеспечивающих их полную специфичность по отношению к кДНК для отсутствия реакции на геномной ДНК, что было подтверждено экспериментальным путём.

Итоговые молярные концентрации каждого праймера в реакционной смеси составляли 400 нМ, зондов – 200 нМ. Для амплификации использовался набор с HS Taq ДНК полимеразой (состав: термостабильная Taq ДНК полимераз, буфер для реакции, смесь четырёх dNTP, вода) (Евроген, Москва), а также детектирующий амплификатор ДТ-96 («ДНК–Технология», Москва). Для обеспечения максимальной эффективности реакции был оптимизирован протокол амплификации: первичная денатурация 95,0 °C – 5 мин.; 50 циклов: 94,0 °C – 10 сек., 62,0 °C – 30 сек. (съёмка). Детекция продуктов амплификации проводилась в реальном времени.

По результатам ПЦР фиксировались пороговые циклы (Cp) прохождения реакций, на основании которых проводились расчёты относительного уровня экспрессии гена PCA3 с выравниванием на транскрипт гена KLK3. Для получения удобного, не дробного формата данных, полученное значение умножали на 1000. Пороговый цикл реакции по транскрипту гена COMT служил для оценки эффективности выделения мРНК и прохождения обратной транскрипции.

После определения относительного уровня экспрессии гена PCA3 и интерпретации результатов согласно диагностическому порогу, полученные данные сравнивались с диагнозом, поставленным на основании результатов гистологических исследований. С помощью методов статистического анализа рассчитывались следующие показатели: чувствительность, специфичность, положительная и отрицательная прогностическая ценность, диагностическая точность.

Результаты. Методами статистического анализа на основании данных гистологического исследования был установлен диагностический порог относительного уровня экспрессии гена PCA3, который составил 35. При уровне относительной экспрессии PCA3 ниже 35, вероятность наличия злокачественных процессов в тканях предстательной железы оценивалась как низкая, больше 35 – высокая.

Из 56 исследованных образцов в 28 (50%) был выявлен высокий уровень экспрессии гена PCA3 (>35), 19 из которых име-

ОНКОУРОЛОГИЯ

ли положительное заключение гистологического анализа, таким образом положительная прогностическая ценность (PPV) составила 67,9%. Из 28 (50%) образцов с выявленным низким уровнем РСА3 (<35), с результатами гистологического исследования совпало 18 (NPV 64,3%).

Чувствительность разработанной тест-системы составила 65,5%, специфичность – 66,7%, диагностическая точность – 66,1%. Полученные результаты соотносятся с литературными данными. В исследованиях Marks et al. (2007) чувствительность составила 58%, специфичность – 72%; Busetto et al. (2013) – 68 и 49% соответственно, Gitteelman et al. (2013) – 77,5 и 57,1%, Ochiai et al. (2013) – 66,5 и 71,6%, Wei et al. (2014) – 76 и 52%.

Заключение. Современным методом скрининга рака предстательной железы является определение уровня простат-специфического антигена в крови. Однако данный метод обладает крайне низкой специфичностью, повышение уровня ПСА в крови наблюдается, в том числе, при инфекциях предстательной железы. Вместе с тем, биопсия простаты является травматичной для пациента и может привести к известным осложнениям.

Проведённая оценка прогностической ценности разработанной коллективом авторов тест-системы для неинвазивного определения уровня экспрессии гена РСА3 позволяет сделать вывод о пригодности маркера РСА3 и тест-системы для выявления наличия онкологических процессов в тканях предстательной железы. Данный метод является неинвазивным, что обуславливает его существенные преимущества и позволяет, наряду с определением ПСА, проведением пальцевого ректального осмотра, УЗИ (ТРУЗИ), МРТ, КТ, получить дополнительный критерий при назначении первой или повторной биопсии предстательной железы.

Первый опыт лечения локализованных форм рака предстательной железы в режиме гипофракционирования

Воробьева Т. Г.

Место работы: ФГБУ ННИИПК имени академика Е. Н. Мешалкина, г. Новосибирск

e-mail: p_filatov@meshalkin.ru

Цель исследования. Оценить результаты проведения лучевой терапии локального рака предстательной железы в режиме гипофракционирования.

Материалы и методы. На базе центра онкологии и радиотерапии клиники им. Акад. Е. Н. Мешалкина на медицинских ускорителях «Elekta Axesse» за 2012–2013 годы проведено лечение локализованного рака предстательной железы у 74 человек. Возраст пациентов от 55 до 83 лет, стадия T1aN0M0 – T2bN0M0.

В зависимости от способа лечения пациенты разделены на 2 группы:

- группа 1 (основная) – лечение в режиме гипофракционирования. В эту группу вошло 24 пациента
- группа 2 (сравнения) – лечение осуществлялось в режиме стандартного фракционирования (РОД 2–2,5 Гр СОД на предстательную железу 76–80 Гр, семенные пузырьки 56 Гр). В эту группу вошли 50 пациентов.

Лечение проводилось в стандартном режиме фракционирования в РД 2,5 Гр, СД 76 Гр. Облучение проводилось VMAT

методикой в режиме конформного стереотаксического облучения с визуальным контролем (IGRT). Исследование включало пациентов с T1N0M0 – T2cN0M0 стадиями заболевания. Для оценки прогноза заболевания и эффективности лечения использовали показатели уровня простатспецифического антигена (ПСА), определение морфологической структуры опухоли по Глиссону и стадии заболевания. Динамическое наблюдение за пациентами, получившими лечение в режиме гипофракционирования, проводилось 1 раз в 3 месяца, в течение 8–16 месяцев. МРТ малого таза с контрастированием проводилось не реже 1 раза в год. Наблюдение за пациентами группы сравнения проводилось 1 раз в 3 месяца в течение 3 лет.

Результаты. В данной работе проводилась оценка клинической симптоматики заболевания по шкале IPSS и Q, биохимический рецидив и прогрессирование процесса, субъективная оценка состояния здоровья пациентов в течение 8–16 месяцев. Показатель ПСА через 3 месяца составил: < 1 нг/мл – 17 (гр. 1), 26 (гр. 2); < 4 нг/мл – 7 (гр. 1), 7 (гр. 2); > 4 нг/мл – 15 (гр. 2) пациентов.

Через 1 год показатель ПСА составил: < 1 нг/мл – 20 (гр. 1), 21 (гр. 2); < 4 нг/мл – 3 (гр. 1), 15 (гр. 2); > 4 нг/мл – 1 (гр. 1), 13 (гр. 2). Пациенты должны были оценить свое состояние здоровья как отличное – 9 (гр. 1), 4 (гр. 2); хорошее – 12 (гр. 1), 21 (гр. 2); удовлетворительное – 3 (гр. 1), 23 (гр. 2). Постлучевые осложнения распределились следующим образом: ранний ректит – 2 (гр. 2); ранний цистит – 2 (гр. 1), 4 (гр. 2); поздний ректит – 4 (гр. 2), поздний цистит – 4 (гр. 2).

Выводы. Проведение конформной лучевой терапии методикой VMAT показало снижение показателя ПСА во всех группах пациентов. Метод ускоренного гипофракционирования можно признать безопасным методом лечения пациентов. Этот метод обладает высокой эффективностью, отсутствием ранних лучевых реакций, значительно сокращает сроки пребывания пациентов в стационаре.

Окончательные результаты эффективности эверолимуса у больных метастатическим раком почки, ранее получавших бевацизумаб: проспективное многоцентровое исследование CRAD001LRU02T

Тимофеев И. В., Снеговой А. В., Варламов С. А., Сафина С. З., Варламов И. С., Гурина Л. И., Манзюк Л. В.

Место работы: Бюро по изучению рака почки, РОНЦ им. Н. Н. Блохина, Алтайский краевой онкологический диспансер, Республиканский клинический онкологический диспансер МЗ Республики Татарстан, Приморский краевой онкологический диспансер

e-mail: tsimafeyeu@gmail.com

Цель. Эверолимус рекомендован для назначения больным метастатическим почечно-клеточным раком (мПКР), у которых произошло прогрессирование заболевания на фоне терапии ингибиторами тирозинкиназы VEGFR.

Эффективность эверолимуса у пациентов с прогрессирующим заболеванием на фоне терапии бевацизумабом ± интерферон (ИФН) неизвестна. Задачей многоцентрового проспективного исследования было оценить эффективность эверолимуса в этой группе больных.

Материалы и методы. Пациенты со светлоклеточным мПКР и нефрэктомией в анамнезе, у которых произошло прогрес-

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

сирование заболевания во время применения бевацизумаба с ИФН или без него, получали эверолимус по 10 мг 1 раз в сутки. Первичной конечной точкой эффективности являлась доля пациентов, у которых отсутствовало прогрессирование заболевания на протяжении 56 дней, при этом использовался 2-стадийный дизайн Simon Minimax (статистическая мощность 80%; $\alpha=0,05$). Результаты первой стадии были доложены на Российском онкологическом конгрессе 2013.

Вторичные конечные точки включали частоту объективных ответов, выживаемость без прогрессирования (ВБП), общую выживаемость (ОВ) и токсичность. Данное исследование зарегистрировано в системе ClinicalTrials.gov под номером NCT02056587.

Результаты. С декабря 2011 по октябрь 2013 г. в исследование включено 37 пациентов (28 мужчин и 9 женщин). Медиана возраста была 60,5 года (с разбросом от 41 до 66 лет), у 11% больных статус по шкале ECOG был > 2 , и 38/62% больных относились к группам благоприятного/промежуточного прогноза по шкале MSKCC. У 5 (14%) пациентов были зафиксированы частичные ответы на терапию и у 26 (70%) – стабилизация болезни. Медиана ВБП составила 11,5 мес (95% ДИ 8,8–14,2). Медиана

ОВ составила 17,4 мес (95% ДИ, 13,5–21,3). У одного пациента отмечена гипергликемия 3 ст. токсичности, и у одного – диарея 3 ст. токсичности. Связанных с терапией проявлений токсичности 4 ст. на момент анализа не наблюдалось. Наиболее распространенными нежелательными явлениями 2 ст. были утомляемость (19%) и пневмонит (8%).

Выводы. Эверолимус продемонстрировал благоприятный профиль токсичности и многообещающую противоопухолевую активность в качестве терапии 2-й линии у больных светлоклеточным мПКР, ранее получавших бевацизумаб \pm ИФН.

Новый молекулярный маркер почечноклеточной карциномы

Шитова М. С., Ковалева О. В., Малаева Д. К., Кжышковска Ю. Г., Грачев А. Н.

Место работы: НИИ Канцерогенеза, ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» МЗ РФ; Лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, Томский Государственный университет

e-mail: ovkovaleva@gmail.com

За последние годы наблюдается неуклонный рост заболеваемости почечно-клеточным раком по всему миру. В России данная патология занимает 10 место по частоте встречаемости среди злокачественных новообразований и, несмотря на большое количество исследований, ее этиология остается невыясненной. Выявление новых диагностических или прогностических факторов рака почки является одним из основных направлений современной молекулярной онкоурологии. Ранее нами был обнаружен белок CLTAP, претендующий на роль опухолевого супрессора почечно-клеточной карциномы.

Цель. Целью данной работы является исследование экспрессии нового белка CLTAP в различных типах опухолей почки методом иммуногистохимии, а также анализ его диагностического и терапевтического потенциала.

Материалы и методы. Образцы тканей почечноклеточной карциномы, а также соответствующих морфологически нормальных тканей, были получены от пациентов, оперированных в 2009–2014 гг. по поводу рака почки в НИИ КО ФГБУ

«РОНЦ им. Н. Н. Блохина» МЗ РФ. Весь материал проходил гистологическую верификацию в отделе патологической анатомии опухолей человека и охарактеризован в соответствии с TNM-классификацией. Анализ экспрессии CLTAP в образцах почечноклеточной карциномы на уровне белка проводился методом иммуногистохимии.

Результаты. Ранее при помощи количественной ПЦР нами показано, что уровень экспрессии мРНК CLTAP в почечноклеточных опухолях снижен более чем в 50 раз по сравнению с нормальной прилежащей тканью. Далее нами была проанализирована экспрессия CLTAP методом иммуногистохимии в 49 образцах тканей опухолей почки и 20 образцах тканей нормальной почки.

Из 49 исследуемых образцов 45 составляли светлоклеточные карциномы (25 образцов 1–2 степени градации по Фурману, 20 образцов – 3–4-степени), 2 образца папиллярного рака, 1 образец хромофобного и 1 рабдомиосаркома почки. Во всех исследованных образцах опухолей отмечена потеря экспрессии исследуемого белка. В 20 исследованных образцах условно нормальной ткани почки, полученной от тех же пациентов, экспрессия CLTAP была выявлена во всех исследованных образцах.

Заключение. Проведенное клиническое исследование подтверждает потерю экспрессии CLTAP в почечноклеточных карциномах и указывает на то, что данный белок функционирует как классический опухолевый супрессор. Потеря его экспрессии происходит непосредственно в процессе опухолевой трансформации и не зависит от стадии и злокачественности опухолевого процесса.

Работа выполнена за счет гранта РНФ (проект № 14–15–00396).

Новые молекулярно-биологические методы в диагностике пограничных опухолей яичников

Васильев А. Н.², Мостович Л. А.¹, Гуляева Л. Ф.¹, Красильников С. Э.³, Вайццкий В. Е.³, Герасимов А. В.³, Кулиджанян А. П.³, Сисакян В. Г.³, Бабаянц Е.

Место работы: 1. ФГБУ «НИИ молекулярной биологии и биофизики», СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

e-mail: andr0005@mail.ru

Введение. Злокачественные опухоли яичников занимают четвертое место среди злокачественных опухолей репродуктивной системы у женщин. Смертность от рака яичников составляет более 50% от выявленных случаев. Среди всех злокачественных опухолей яичников, в плане благоприятного клинического течения, прогноза и возможности проведения органосохраняющего лечения, с сохранением репродуктивной функции, обращает на себя внимание группа пограничных опухолей, доля которых может составлять 15–23%. Обычно эти опухоли яичников встречаются у женщин репродуктивного возраста, на ранних стадиях (у 80% пациенток выявляется I ст. заболевания), имеют благоприятный клинический прогноз, что позволяет провести органосохраняющее лечение и реализовать репродуктивную функцию пациенток. Клиническая диагностика пограничных опухолей, как и рака яичников, затруднена из-за отсутствия патогномоничных симптомов, а результаты лучевых методов диагностики (УЗИ,

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

МРТ, КТ) на дооперационном этапе позволяют только отнести опухолевые образования в малом тазу, по ряду признаков, к группе повышенного онкологического риска. По этой причине диагноз пограничной опухоли может быть достоверно установлен только по итогам послеоперационного морфологического исследования. В связи, с чем до 40% операций у пациенток с пограничными опухолями проводится непрофильно в гинекологических стационарах, без точного стадирования опухолевого процесса.

Для оценки степени агрессивности, возможности проведения органосохраняющей терапии и определения эффективности проводимой терапии в настоящее время проводится поиск новых опухолевых маркеров с использованием методов молекулярной биологии. Например изучаются мутации важных регуляторных генов Braf, Kras, p53, PTEN. В качестве прогностических критериев проводится исследование экспрессии белков, участвующих в регуляции пролиферации (Ki-67, циклины и др.) и апоптоза (bcl-2, bcl-x, bak, bax, сурвивин). Такими прогностическими маркерами могут являться компоненты экстраклеточного матрикса: остеопонтин (изоформы OPNa, OPNb и OPNc) и тромбоспондин-1 (TSP-1). Известно, что эти белки принимают активное участие в процессах канцерогенеза. Во многих изученных типах рака наблюдается корреляция уровня экспрессии остеопонтина (особенно изоформы OPNc) и тромбоспондина-1 с агрессивностью течения заболевания.

Цель исследования. Установление особенности экспрессии генов остеопонтина и тромбоспондина-1 в пограничных опухолях яичников.

Материалы и методы. На базе Новосибирского областного онкологического диспансера была сформирована выборка послеоперационных образцов опухолевых тканей яичников. Всего было проанализировано 30 образцов, которые были разделены на 3 группы: рак яичников (T3N0M0) (12); пограничная опухоль яичников (T1N0M0) (10) и киста яичников (8). Уровень экспрессии исследуемых генов был проанализирован методом ОТ-ПЦР в реальном времени с использованием значений пороговых циклов Ct с учетом эффективности реакций исследуемого гена и гена «домашнего хозяйства» GAPDH и b-актина. Статистическая обработка данных проводилась в программе Statistica 6.0. Для оценки достоверности различий между группами использовался критерий Манна-Уитни. Для количественных признаков общее межгрупповое различие оценивалось при помощи критерия Крускала-Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты исследования показали достоверное ($p < 0,05$) увеличение уровня экспрессии изоформ остеопонтина OPNa и OPNb как в образцах тканей рака яичников, так и в образцах пограничных опухолей по сравнению с образцами кистом яичников. Уровень экспрессии обеих изоформ был значительно повышен в образцах пограничных опухолей по сравнению с раком яичника. В то же время экспрессия изоформы OPNc отсутствовала во всех образцах кистом яичников, тогда как в тканях рака яичника наблюдалось значительное повышение уровня экспрессии по сравнению с тканями пограничных опухолей. Для тромбоспондина-1 была обнаружена тенденция к снижению уровня экспрессии с повышением агрессивности опухолевых тканей. В образцах тканей кистом отмечен наибольший уровень экспрессии TSP1, а наименьший – в образцах рака яичника.

Для дальнейшего подтверждения полученных результатов планируется провести анализ экспрессии на белковом уровне

не только в образцах опухолевых тканей яичников, но и в плазме крови больных.

Заключение. Профиль экспрессии изоформ остеопонтина и тромбоспондина-1 зависит от типа новообразований яичников. Пограничные опухоли яичников характеризуются наибольшим уровнем экспрессии изоформ OPNa и OPNb, и промежуточными показателями уровней экспрессии OPNc и тромбоспондина-1. Возможно при дальнейшем изучении полученные результаты позволят выделить совокупность факторов, определяющих биологическую агрессивность этих опухолей, и окажут существенную помощь клиницистам в принятии решений.

Предикторы прогноза и оценки эффективности лечения рецидивов рака шейки матки

Гуськова Е. А., Горошинская И. А., Никитина В. П.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель исследования. Изучение значимости ряда показателей, характеризующих интенсивность свободнорадикальных процессов, выраженности оксидативного стресса, степени эндогенной интоксикации в прогнозе и оценке эффективности лечения больных с рецидивами шейки матки (РШМ).

Материалы и методы. Исследовали интенсивность H₂O₂-люминолзависимой хемилюминесценции, уровень пероксинитрита (ONOO⁻) и производных оксида азота: нитрозогемоглобина, нитрозоглутатиона и нитротирозина, оксидазную активность церулоплазмينا, содержание веществ средней молекулярной массы – MCM254 и MCM280, уровень общей и эффективной концентрации альбумина – ОКА и ЭКА, резервную связывающую способность альбумина по отношению ЭКА/ОКА • 100%. Определяли коэффициент интоксикации, отражающий баланс между накоплением и связыванием токсических лигандов по формуле: КИМCM/ЭКА = (MCM254/ЭКА) • 1000.

Полученные данные сопоставлены с результатами лечения 27 больных с рецидивами РШМ с применением стандартных курсов полихимиотерапии по схеме CAP.B зависимости от степени регрессионного эффекта проводимого противоопухолевого воздействия больные были разделены на две группы: с регрессией опухоли на 50–80% (55,6% больных) и со стабилизацией процесса (44,4%). Контрольную группу составили 26 женщин аналогичного возраста без онкологической патологии.

Результаты. До лечения у больных РШМ отмечалось увеличение интенсивности H₂O₂-люминолзависимой хемилюминесценции в 2,95 раз и практически двукратное повышение уровня пероксинитрита в плазме крови в сравнении с контрольной группой. Уровень нитрозил-гемоглобина повышен менее значительно. Обращает внимание снижение связывающей способности альбумина и увеличение концентрации молекул средней массы, приводящее к нарастанию коэффициента интоксикации в 2 раза. На этом фоне отмечено повышение содержания церулоплазмينا – основного белкового антиоксиданта плазмы крови, в 1,7 раза по сравнению с контрольными значениями, что носит, вероятно, защитный адаптивный характер. Больные РШМ характеризуются выраженным изменением показателей, отражающих степень эндогенной интоксикации. Увеличено содержание молекул средней массы на 27,5% (MCM254) и на 53,7% (MCM280), снижена эффективная концентрации аль-

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

бумина – на 33,3% и его связывающая способность – на 27,8%, что привело к почти двукратному увеличению коэффициента интоксикации и свидетельствует о глубоком дисбалансе между накоплением и связыванием токсических лигандов.

У больных с эффектом от лечения отмечалось снижение уровня пероксинитрита в 2 раза на фоне заметного повышения антиоксидантной активности церулоплазмина. При этом наблюдалось резкое увеличение интенсивности хемилюминесценции (на 51,7% от исходных значений) и нарастание концентрации среднемолекулярных продуктов, что является, по-видимому, отражением интенсивного распада опухолевого субстрата. Напротив, у больных РШМ со стабилизацией опухолевого процесса отмечалось снижение интенсивности хемилюминесценции (на 54,0% от исходных значений), что ассоциируется с менее интенсивным распадом опухолевого субстрата.

Обращает внимание, что антиоксидантная активность церулоплазмина у больных с высокой эффективностью лечения превышала таковую у больных со стабилизацией процесса на 71,8% и была достоверно выше значений у здоровых, что, по-видимому, препятствовало избыточному образованию высокотоксичных продуктов свободно радикальных реакций. В частности, уровень пероксинитрита, у больных с выраженной регрессией опухоли был на 75,5% ниже, чем у больных со стабилизацией процесса.

Как следствие, при эффективном лечении коэффициент интоксикации был почти вдвое ниже (на 76,6%) по сравнению с больными со стабилизацией процесса ($10,21 \pm 0,4$ и $18,03 \pm 2,27$ соответственно) за счет более высокой эффективной концентрации альбумина и его связывающей способности на 71,1% и 79,7%, чем у больных со стабилизацией. Отсутствие положительной динамики сочеталось с повышенным уровнем пероксинитрита, снижением активности церулоплазмина, резким увеличением коэффициента интоксикации за счет снижения связывающей способности альбумина. Можно предположить, что указанные нарушения – следствие дальнейшей активации свободнорадикальных процессов.

Результаты проведенных исследований демонстрируют взаимосвязь изученных показателей со степенью регрессионного эффекта: при изначально резко сниженном уровне пероксинитрита и увеличенном содержании нитрозилгемоглобина можно ожидать отсутствие или слабо выраженный эффект лечения, а изначально увеличенный или нормальный уровень пероксинитрита и отсутствие увеличения нитрозилгемоглобина позволяет прогнозировать выраженную регрессию опухоли.

Заключение. Таким образом, ряд биохимических показателей отражает чувствительность рецидивного рака шейки матки к многокурсовой полихимиотерапии. Фоновые значения пероксинитрита и нитрозилгемоглобина можно использовать в качестве высоко информативных предикторов прогноза и оценки эффективности лечения рецидивов рака шейки матки.

Изменение экспрессии генов, ответственных за рецепцию и метаболизм эстрогенов, при малигнизации тканей тела матки

Водолажский Д. И., Кутилин Д. С., Моисеенко Т. И., Гудуева Е. Н., Никитин И. С., Франциянц Е. М.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. По данным ВОЗ в 2014 году во всем мире было зафиксировано около 320 тысяч новых случаев рака тела матки, что ставит данную патологию на шестое место по распространенности среди онкологических заболеваний у женщин в развитых странах (World Cancer Report, 2014). Ведущую роль в патогенезе данного заболевания играет гиперэстрогения эндогенного или экзогенного происхождения (American Cancer Society, cancer.org, 2015).

Эстрогены стимулируют пролиферацию клеток, индуцируя синтез факторов роста и их рецепторов, в том числе и эстрогеновый рецептор α типа (ER α или ESR1) (Katzenellenbogen B. S., 2001.). Одним из важных элементов патогенеза гормонозависимого рака является образование эстрогенов из андрогенов. Эта реакция катализируется ферментом ароматазой (CYP19A1) (Salhab M, et al, 2006).

По данным Sasaki M. и соавторов (2003) метаболическая активация синтеза эстрадиола является ключевым фактором в канцерогенезе эндометрия. Важная роль в злокачественной трансформации различных органов, включая эндометрий, принадлежит гидрокси-производным эстрогенов, образующимся в результате катализируемого цитохромами CYP1A1 и CYP1B1 гидроксилирования эстрадиола в C-2 и C-4 положении соответственно.

Целью нашего исследования стало изучение изменения экспрессии генов, ответственных за рецепцию и метаболизм эстрогенов при малигнизации тканей тела матки для поиска предиктивных маркеров малигнизации.

Материалы и методы. Клиническим материалом для исследования послужили ткани (опухолевые и условно здоровые) 21 пациентки Юга России в возрасте 38–72 года с гистологически подтвержденным диагнозом рака тела матки, проходивших плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ. Определение относительной экспрессии генетических локусов CYP1A 1, CYP1A 2, CYP1B1, CYP19, ESR1, ESR2, GPER, STS, SULT1A1, SULT1E1 проводили методом Real-Time qPCR (RT-qPCR). АСТВ локус использовали в качестве референтного для нормализации полученных показателей количественной RT-PCR.

Принцип метода заключается в одновременной амплификации генов-мишеней и референтного гена в опытной (опухолевая ткань) и контрольной (условно-здоровая ткань) пробах. Тотальную (суммарную) РНК из тканей выделяли методом гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции. После чего проводили обработку ДНК-азой 1. Перед проведением реакции обратной транскрипции для проверки качества выделенной РНК проводили электрофорез в 2% агарозном геле в ТВЕ буфере по методу, описанному Masek T. et al. (2005).

Для синтеза кДНК использовали набор реагентов «РЕ-ВЕРТА-L» («Интерлабсервис», Россия). Дизайн праймеров осуществлен с использованием референтных последовательностей ДНК NCBI GenBank. Количественная RT-PCR амплификация проводилась с использованием термоциклера Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA) в соответствии с инструкциями производителя. Статистический анализ выполняли с использованием прикладных пакетов программ Microsoft Excel 2013 и STATISTICA 8.0. Оценку различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0.05$.

Результаты. В ходе исследования в объединенной выборке без учета возраста и стадии дифференцировки опухолей нами обнаружено статистически достоверное увеличение

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

экспрессии гена ESR1 на 124% ($p < 0,05$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки. Возраст пациенток варьировал от 38 до 72 лет. Достоверного изменения экспрессии других генетических локусов в объединенной выборке не обнаружено.

С учетом возрастных отличий, в группе пациенток до 55 лет обнаружено достоверное увеличение экспрессии гена SULT1E1 (эстроген сульфотрансфераза цитозольного типа) на 200% ($p < 0,005$), а в группе пациенток старше 55 лет обнаруживается достоверное повышение экспрессии гена ESR1 на 124% ($p < 0,005$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки.

После ранжирования по стадиям дифференцировки клеток опухолей на G 1, 2 и 3 группы были получены следующие результаты: у группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G1 обнаружено достоверное ($p < 0,005$) увеличение экспрессии генов в опухолевой ткани по сравнению условно нормальной CYP1A1 (на 1820%), CYP1A 2 (на 845%), CYP1B1 (на 420%), CYP19 (на 737%), ESR1 (на 198%), ESR2 (на 174%), GPER (на 54%), STS (на 746%), SULT1A1 (на 309%) и SULT1E1 (на 412%).

У группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии дифференцировки G2 отсутствовали достоверные различия в экспрессии исследованного паттерна генов опухолевой ткани по сравнению условно нормальной тканью. У группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G3 наблюдалось достоверное ($p < 0,005$) увеличение экспрессии генов CYP1A2 на 90%, CYP19A на 72%, ESR2 на 98%, GPER на 50%, STS на 130% и SULT1E1 на 110%.

Ранжирование выборки пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G2 ($n=14$) по возрастному критерию показало, что в группе пациенток до 55 лет наблюдается достоверное ($p < 0,05$) увеличение экспрессии генов CYP1A1, GPER, STS и SULT1E1 на 640%, 240%, 100% и 200% соответственно, а у пациенток старше 55 лет включительно наблюдается достоверное увеличение экспрессии только гена ESR1 на 110% ($p < 0,05$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки.

Заключение. Таким образом, транскрипционная активность генов в процессе малигнизации тканей тела матки имеет выраженный возраст – ассоциированный характер, а также зависит от степени дифференцировки клеток опухоли G. Важную роль в процессе малигнизации тканей матки играют гены ответственные за гидроксирование эстрадиола в C-2 положении (CYP1A1), образование эстрогенов из андрогенов (CYP19), ответственные за регулирование уровня ядерных рецепторов эстрогенов (SULT1E1 – ген эстрогеновой сульфотрансферазы), ESR1 и 2 и мембранных рецепторов эстрогенов (GPER), а также ответственных за преобразование стероидов в их активную форму (ген стероидной сульфатазы, STS), что позволяет предложить их использование в качестве биомаркеров этого процесса.

Литература

1. International Agency for Research on Cancer (2014). World Cancer Report 2014. World Health Organization. Chapter 5.12. ISBN978–92–832–0429–9.2.
2. American Cancer Society, cancer.org, 20153.
3. Katzenellenbogen B. S. Estrogen Receptors: Bioactivities and Interactions with Cell Signaling Pathways // Biol. Reproduction. 2001. Vol. 54. P. 287–293
4. Salhab M, Reed MJ, Al Sarakbi W, Jiang WG, Mokbel K. The role

of aromatase and 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 mRNA expression in predicting the clinical outcome of human breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2006. P. 155–62.

5. Sasaki M, Kaneuchi M, Fujimoto S, Tanaka Y, Dahiya R. CYP1B1 gene in endometrial cancer. Mol Cell Endocrinol. 2003. P. 171–6.

Изменение экспрессии про- и антиапоптозных генов при малигнизации тканей тела матки

Водолажский Д. И., Кутилин Д. С., Тимошкина Н. Н., Гудуева Е. Н., Франциянц Е. М.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Рак тела матки – самая распространенная злокачественная опухоль органов малого таза у женщин. По состоянию на 2014 год, во всем мире ежегодно рак эндометрия диагностируется более чем у 300 тыс женщин, из которых ежегодно умирает порядка 76 тысяч (World Cancer Report, 2014). В настоящее время считают доказанным, что в процессе малигнизации тканей существенная роль принадлежит изменениям в апоптозных сигнальных путях.

Целью нашего исследования был скрининг экспрессии генов ответственных за регуляцию про- (BAX, CASP7, CASP3, CASP8, CASP9, CASP8/FADD и p53) и анти-апоптозных сигнальных каскадов (MDM2 и BCL2) при малигнизации тканей матки. Решение данной задачи позволит осуществить создание панели специфичных онкомаркеров и исследовать фундаментальные механизмы онкотрансформации на тканевом и клеточном уровнях.

Методы. В данном исследовании использовали операционные биоптаты условно-здоровых (перифокальная зона) и опухолевых тканей 27 пациенток Юга России в возрасте 33–75 лет с гистологически подтвержденным диагнозом рак тела матки, поступивших на лечение в ФГБУ РНИОИ МЗ РФ в 2014–2015 гг. Определение относительной экспрессии 9 генетических локусов (BAX, CASP7, CASP3, CASP8, CASP9, CASP8/FADD, p53, MDM2 и BCL2) проводили методом Real-Time qPCR (RT-qPCR).

Суммарную РНК из тканей выделяли методом гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции. Качество выделенной РНК контролировали электрофоретически. Для синтеза библиотеки кДНК использовали набор реагентов «РЕВЕРТА-L» (Россия, «Интерлабсервис»). Праймеры разработали с использованием референтных последовательностей ДНК NCBI GenBank. RT-qPCR амплификацию проводили на термоциклере Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA).

Генетический локус ACTB использовали в качестве референтного для нормализации полученных показателей RT-qPCR. Статистический анализ выполняли с использованием прикладных пакетов программ Microsoft Excel 2013 и STATISTICA 8.0. Оценку различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты. С учетом возрастных изменений гормонального статуса, все пациентки были разделены на две группы – до 55 лет (10 человек) и старше 55 лет (17 человек). У пациенток в возрасте до 55 лет в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой отсутствовали достоверные изменения в экспрессии исследуемого паттерна генов. У пациенток в возрас-

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

те старше 55 лет в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью наблюдалось достоверное увеличение экспрессии про-апоптозного гена BAX на 80% ($p < 0,0005$).

Также нами было проведено ранжирование имеющейся выборки по стадиям дифференцировки клеток опухолей G1, G2 и G3. Были получены следующие результаты: у группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G1 в возрасте 45–68 лет обнаружено достоверное ($p < 0,05$) увеличение экспрессии генов MDM2, CASP3, CASP9, BCL2 и p53 на 85%, 222%, 131%, 100% и 98% соответственно в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой.

У пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G2 в возрасте 38–69 лет обнаружено достоверное увеличение экспрессии анти-апоптозного гена BAX на 79% ($p < 0,005$). У пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G3 в возрасте 55–63 года обнаружено достоверное ($p < 0,005$) увеличение экспрессии генов CASP7, CASP3 и CASP8 на 71%, 90% и 53% соответственно в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки.

Заключение. Наши данные свидетельствуют о том, что при малигнизации тканей матки экспрессия исследованных генетических локусов имеет ассоциированные с возрастом и стадиями дифференцировки опухолевых клеток особенности. Так, у пациенток со стадией дифференцировки опухолевых клеток G1 наблюдается одновременное повышение экспрессии как про-апоптозных генов (CASP3, CASP9, p53), так и анти-апоптозных генов (MDM2, BCL2), в то время как у пациенток со стадией дифференцировки опухолевых клеток G2 и G3 – только анти-апоптозных генов (BAX, CASP7, CASP3, CASP8).

Подобный профиль экспрессии генетических локусов может быть объяснен разными причинами, включая как «компенсаторный эффект» апоптозных генов в онкотрансформированных клетках (транскрипция определенных генов находится на повышенном уровне, но образуется дефектный белок в силу возникших в ДНК мутациях), так и гистологическую разнородность исследуемого материала (содержание в опухолевом образце нормальных клеток). Однако на «пост-раннем» этапе онкотрансформации (стадия дифференцировки опухолевых клеток G1) важное значение в качестве предиктивных онкомаркеров имеют экспрессионные характеристики генов MDM2 и BCL2.

Влияние ингибиторов ароматазы на экспрессию маркеров пролиферации при рецидивирующем раке яичника

Лисянская А.С.¹, Фадеева Е.П.¹, Глушаков Р.И.², Манихас Г.М.¹, Тапильская Н.И.²

Место работы: 1. Городской клинический онкологический диспансер, г. Санкт-Петербург; 2. Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, г. Санкт-Петербург

e-mail: gynicat@mail.ru

Использование ингибиторов ароматазы 3 поколения (ИА), в основном, как препаратов эндокринотерапии гормонально-зависимых опухолей постепенно расширяется, однако их применение во второй и последующих линиях противоопухолевой терапии остается малоизученным.

Задача исследования. Установить влияние ингибиторов ароматазы на экспрессию маркеров пролиферации и апоптоза при рецидиве рака яичника (эндометриоидная аденокарцинома).

Материал и методы. Исследование выполнено на биопсийном материале пациентов с рецидивом эндометриоидной аденокарциномы яичника. В исследование включено 19 пациенток в постменопаузе (средний возраст $54,6 \pm 2,2$ лет) с рецидивом рака яичника III стадии, у которых по результатам патоморфологического исследования биоптата опухоли, полученного при выполнении диагностической лапароскопии, диагностирована рецидивная болезнь.

Всем пациентам при первичном лечении была выполнена оптимальная или субоптимальная циторедуктивная операция и 6 циклов комбинированной химиотерапии по схеме паклитаксел + карбоплатин (AUC-6). Длительность безрецидивного периода составила от 6 до 10 месяцев (в группе медиана – 7,5 месяцев, средний безрецидивный период – $8,2 \pm 1,2$ мес). Пациентки получали по 1 мг анастрозола ежедневно в течение 3 месяцев, после чего всем пациенткам выполнялась диагностическая лапароскопия с выполнением биопсии опухоли. При прогрессировании заболевания на фоне приема ИА пациентки исключались из исследования и получали цитостатическую терапию.

Проводку гистологического материала осуществляли по стандартной методике. Экспрессия маркера пролиферации Ki-67, фермента ароматазы, рецепторов к эстрогену (ER) и прогестерону (PR) в опухолевой ткани определялась с помощью соответствующих антител. Определение уровней экспрессии искоемых антигенов осуществлялось по методу McCarthy или по удельному весу клеток, позитивных в иммуногистохимической реакции.

Результаты. Уровни экспрессии маркера пролиферации Ki-67 до и после лечения составили $46,7 \pm 3,8\%$ и $15,6 \pm 3,2\%$ соответственно ($p < 0,05$), уровни экспрессии ER – $158,7 \pm 18,5$ Hscore и $57,1 \pm 25,1$ Hscore соответственно ($p < 0,05$), уровни экспрессии PR – $170,3 \pm 22,4$ Hscore и $42,1 \pm 25,1$ Hscore соответственно ($p < 0,03$). Уровни фермента ароматазы до лечения составили $164,0 \pm 17,8$ Hscore, после лечения – $24,2 \pm 11,2$ Hscore ($p < 0,05$).

Заключение. Таким образом, ИА демонстрируют противоопухолевые свойства при рецидивирующем раке яичника за счет не только проапоптического эффекта, но также снижения уровней экспрессии фермента ароматазы и рецепторов стероидных гормонов.

Методика диффузно-взвешенных изображений (ДВИ) в оценке миоцентриальной инвазии при раке эндометрия (РЭ)

Столярова И.В., Шаракова В.В.

Место работы: ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» МЗ РФ, г. Санкт-Петербург

e-mail: istolyarova09@mail.ru

Цель исследования. Оценить диагностическую точность методики ДВИ в определении глубины инвазии опухоли в миоцентриальную оболочку у больных РЭ.

Материалы и методы. 96 больным гистологически верифицированным раком эндометрия выполнена МР-томография на аппаратах фирмы Siemens 1,5 и 3,0 Т.

Использовалась 6 фазная катушка body и 9 фазная спинальная катушка. Выполнялись сингл-воксельные однофазные-эхопланарные последовательности с жироводавлением

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

TR3300/79, ширина среза 3–4 мм, матрица 256х256, а также высокие факторы ДВИ 1100 сек/мм², позволяющие оптимизировать соотношение сигнал-шум.

Основные протоколы включали в себя комбинацию по крайней мере 2-х полученных Т 2 ВИ в сагиттальной и косой проекциях (перпендикулярные оси матки) и Т 1 ВИ. Ширина срезов варьировала от 1 до 5 мм, с промежутком (дис-фактором) до 0,25 мм. Для получения максимально качественных изображений были использованы FOV (20–25 см) с матрицей 512х512 см. Т 2 Cor ВИ с шириной среза 3–4 мм/0,4 мм использовались для оценки протяженности патологического процесса. Общее время сканирования в среднем занимало 25–30 минут. с жироподавлением (T1WI Fat Sat). Оценивалась глубина миометральной инвазии на Т 2 ВИ, Т 1 СЕ и при наложении Т 2 и высоких факторов ДВИ.

С целью определения дальнейшей тактики лечения определялось соотношение между шириной миометрия и глубиной инвазии.

В дальнейшем все больные были подвергнуты оперативному вмешательству в объеме экстирпации матки с придатками. Данные операционного материала были сопоставлены с результатами дооперационной диагностики на МРТ.

Результаты. При оценке миометральной инвазии у 66 больных была выявлена инвазия в миометрий, из них у 52 пациенток инвазия была поверхностной, а у 14 больных глубина инвазии превышала половину толщины миометрия. В 86% случаев данные полностью коррелировали с результатами гистологического исследования операционного препарата.

Выводы. МРТ с использованием наложения Т 2 ВИ и ДВИ повышает эффективность диагностики рака эндометрия, позволяет достоверно оценить степень инвазии параметральной клетчатки и дать комплексную оценку состояния лимфатических узлов. Чувствительность метода – 92%, специфичность – 86%.

Характеристика локального иммунитета у больных доброкачественными и злокачественными опухолями эндометрия

Златник Е. Ю., Никитин И. С., Новикова И. А., Никитина В. П., Селютин О. Н., Кравцова О. Е., Бахтин А. В.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Изучить сходство и различия характеристик локального клеточного иммунитета при доброкачественных и злокачественных новообразованиях эндометрия.

Материалы и методы. В исследование были включены 45 больных: раком эндометрия (РЭ) Т 1–2N0M0 (30 больных), миомой матки (ММ, 9 больных), а также раком эндометрия в сочетании с миомой матки (РЭ+ММ, 6 больных), которым была выполнено хирургическое лечение в отделении онкогинекологии ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ.

Сравнительная характеристика групп больных по возрасту и сопутствующей патологии не выявила достоверных различий, что позволило провести анализ результатов исследования. Состояние локального иммунитета изучалось в образцах тканей опухоли и здоровой ткани (линии резекции), взятых при проведении оперативного вмешательства.

Удаленные опухоли подвергались патоморфологическому исследованию; кроме того, отдельные фрагменты опухолевой и визуально немалигнизированной ткани, которую считали здоровой, гомогенизировали с помощью дезагрегирующего устройства BD Medimachine. В гомогенатах тканей определяли популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов на проточном цитометре FACSCantoII (BD) с панелью антител Т-, В-, NK (CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD16/56), результаты выражали в процентах от общего количества лимфоцитов.

Результаты. В тканях обоих видов опухолей выявлено выраженное преобладание количества Т- и NK-лимфоцитов над В-клетками, уровень которых не превышает 2%, а среди Т-лимфоцитов обнаружено преобладание CD3+CD8+ над CD3+CD4+ клетками. Аналогичные особенности наблюдаются и в неизмененной ткани, взятой по линии резекции при удалении обеих опухолей.

При этом обнаружен ряд различий иммунологического микроокружения РЭ и ММ. Так, в ткани РЭ отмечено более высокое содержание уровней CD3+ лимфоцитов по сравнению с непораженной тканью (85,6±2,2 и 73,5±3,2% соответственно); аналогичная закономерность наблюдается по содержанию CD3+CD4+ (37,5±4,4 и 24,4±1,5% соответственно) и противоположная – по содержанию NK-лимфоцитов (10,2±2,2 и 22,0±3,0% соответственно); для всех показателей $p < 0,05$. В ткани ММ не выявлено статистически достоверных отличий уровней исследованных лимфоцитарных субпопуляций от показателей непораженной ткани линии резекции.

Кроме того, в ткани РЭ содержится больше Т-лимфоцитов исследованных субпопуляций по сравнению с тканью ММ: 37,5±4,4% CD3+CD4+ лимфоцитов и 45,5±3,8% CD3+CD8+ клеток, при ММ эти показатели статистически достоверно ниже и составляют 23,2±3,1% и 31,5±3,5% соответственно ($p < 0,05$). Для CD3+CD8+ лимфоцитов подобные различия прослеживаются и в ткани линии резекции, составляя 43,0±3,74% при РЭ и 29,14±2,34% при ММ ($p < 0,05$). Выраженные различия выявлены между тканью РЭ и ММ по содержанию NK-клеток: в ткани РЭ обнаружено его двукратное снижение (10,2±2,2%) по сравнению с тканью ММ (23,1±5,4%).

У 6 больных, у которых была обнаружена как злокачественная, так и доброкачественная опухоль эндометрия, характеристики лимфоцитарного микроокружения доброкачественной опухоли оказываются ближе к наблюдаемым при злокачественной. Так, если при ММ в отсутствие РЭ показан ряд вышеописанных отличий содержания лимфоидных субпопуляций от обнаруженных при РЭ, то при одновременном наличии ММ и РЭ различия, касающиеся содержания в опухолях лимфоцитов Т-ряда, нивелируются; статистически значимые сохраняются только для NK-клеток.

Заключение. Обнаружены черты как сходства, так и различия показателей локального клеточного иммунитета между доброкачественными и злокачественными опухолями эндометрия, частично присущие и немалигнизированной ткани линии резекции. Ткань РЭ отличается от ткани ММ низким содержанием NK-клеток и высоким – Т-лимфоцитов, принадлежащих к субпопуляциям CD3+CD4+ и CD3+CD8+.

При ММ, развивающейся вместе с РЭ, в формировании иммунологического окружения доминирует влияние последнего, т.е. лимфоцитарный состав ткани доброкачественной опухоли приближается к показателям, обнаруженным при РЭ, имея при этом ряд выраженных отличий от показателей при ММ, развивающейся самостоятельно. Возможно, такая картина

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

отражает дистантное влияние злокачественной опухоли на окружение доброкачественной.

Системная фотодинамическая терапия – новый адъювантный метод химиолучевого лечения местнораспространённого рака шейки матки

Литвинова Т. М., Косенко И. А., Василевский А. П., Александрова Е. Н.

Место работы: Белорусский государственный медицинский университет, РНПЦ Онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова

e-mail: ikosenko@tut.by

В структуре онкологической заболеваемости Беларуси рак шейки матки занимает 9 место (4,1%), в структуре смертности – 6 (4,9%). Эффективность лечения местнораспространённого рака шейки матки (МР РШМ) в стране, диагностируемого в 25% случаев, варьирует в зависимости от стадии злокачественного процесса не превышая 40%.

Повысить результаты химиолучевого лечения МР РШМ возможно за счёт использования новых адъювантных методов лечения, одним из которых может быть системная фотодинамическая терапия (СФДТ), состоящая из одновременного введения в организм фотосенсибилизатора и проведения внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК).

Цель работы. Разработать, изучить в эксперименте *in vivo* и апробировать в клинической практике новый мультимодальный метод лечения МР РШМ, состоящий из сочетанной лучевой терапии с радиосенсибилизацией цисплатиной и процедурами СФДТ.

Материалы и методы. В экспериментальную часть исследования включено 91 животное: 55 белых беспородных крыс с лимфосаркомой Плисса (ЛСП) и 36 мышей линии СВА с раком шейки матки (РШМ-5). Крысы и мыши были разделены в зависимости от воздействующего фактора на 6 групп. Контрольная группа крыс состояла из 20 особей, остальные группы – из 7. В каждую группу мышей входило по 6 животных. Изучали действие на опухоль 5 процедур ВЛОК, сеанса брахитерапии (БР) в дозе 13,5 Гр, СФДТ, ВЛОК и БР, СФДТ и БР. Использовали отечественный препарат фотолон и методики СФДТ и БР, разработанные специально для животных. Изучали динамику и индекс роста опухоли, процент торможения её по объёму, среднюю продолжительность жизни животных и процент излеченности.

В рандомизированное клиническое исследование вошли 2 группы больных МР РШМ IIB-IVA стадий. Контрольная (1-ая) группа состояла из 45 женщин, исследуемая (2-ая) – из 35. Пациентки обеих групп были сопоставимы по стадии, гистотипу и степени дифференцировки опухоли, а также по возрасту и наличию сопутствующих заболеваний. Больные 1-й группы лечились химиолучевым методом согласно национальным стандартам РБ 2012 года, 2-й – новым мультимодальным методом, в котором стандартная методика была дополнена 2 процедурами СФДТ. Последняя состояла из внутривенного однократного введения фотолон и 5 процедур ВЛОК.

СФДТ выполнялась после дозы в 30 Гр дистанционной лучевой терапии и после завершения химиолучевого лечения.

Результаты. В эксперименте было установлено, что у крыс СФДТ уменьшает размеры площади под кривой роста ЛСП в 2,4 раза, а при сочетании её с БР – в 2,9 раза ($p < 0,05$). Од-

новременно имеет место снижение индекса роста опухоли при СФДТ со 100% в контроле до 41,4%, а при сочетании её с БР – до 33,7%. Отмечено также увеличение продолжительности жизни крыс на 2–5 дней и исчезновение ЛСП после системной фотодинамической терапии у 42,8% крыс. У мышей с РШМ-5 также имело место уменьшение размеров площади под кривой роста опухоли после СФДТ в 4,9 раза, а при сочетании с БР – в 6,7 раз ($p < 0,05$). Индекс роста РШМ-5 снизился в первом случае по сравнению с контролем (100%), до 31,3%, во втором – до 14,9%.

Больные обеих групп наблюдались в течении одного года. Изучение различных побочных реакций I–IV степеней тяжести в 1-й и 2-й группах показало, что благодаря СФДТ их число удалось снизить со 100% до 54,3% ($p < 0,05$). Процент местных лучевых реакций уменьшился с 22,2% до 5,8% ($p < 0,05$). Частота полной регрессии опухоли оказалась выше на 18,8% во 2-й группе больных. Одногодичная общая наблюдаемая выживаемость увеличилась на 13,0%, выживаемость без прогрессирования – на 8,7%.

Заключение. Новый мультимодальный метод лечения МР РШМ с использованием СФДТ, обоснованный в эксперименте *in vivo*, позволяет статистически значимо снизить число побочных эффектов и местных лучевых реакций, увеличить процент полной регрессии опухоли на 18,8%, и повысить общую одногодичную выживаемость на 13,0%, а выживаемость до прогрессирования – на 8,7%.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения СФДТ при сочетанной химиолучевой терапии у больных МР РШМ.

Новообразования стромы полового тяжа в гинекологической практике

Савоневич Е.Л.¹, Жлобич М.В.¹, Гарелик Т.М.², Миклашевич Ф.С.², Матвейчик Н.В.²

Место работы: 1. Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»; 2. УЗ «Гродненская областная клиническая больница» г. Гродно, Беларусь

e-mail: elena@savonevich.com

Гранулезоклеточные опухоли яичников относятся к редким неэпителиальным новообразованиям и по Международной гистологической классификации опухолей ВОЗ включены в группу новообразований стромы полового тяжа. Они могут иметь как доброкачественное, так и злокачественное течение. По данным разных авторов гранулезоклеточные опухоли составляют 5–10% от всех злокачественных новообразований яичников (Бохман Я.В. 1989; Урманчеева А.Ф. 2001; Uygun K. 2003).

Гранулезоклеточные опухоли продуцируют ряд стероидных и гликопротеидных гормонов, в связи с чем имеют характерные клинические симптомы в разных возрастных группах пациенток. Среди всех гормонотропных новообразований яичников они являются самыми распространенными. В 1977 году R.E. Scully были выделены два типа гранулезоклеточных опухолей – взрослый (95%) и ювенильный (5%). С 1995 года это отражено в Международной гистологической классификации опухолей ВОЗ.

На сегодняшний день гранулезоклеточные опухоли яичников взрослого типа считаются «непрогнозируемыми опухолями», т.к. вопрос об их злокачественном потенциале и достоверных

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

клинико-морфологических факторах прогноза окончательно не решен. В Гродненской области по данным Белорусского канцер-регистра гранулезоклеточные опухоли диагностируют в среднем у 6–7 женщин в год, что составляет 5,7% от случаев всех злокачественных новообразований яичников.

Целью настоящего исследования было изучение клинико-генетических особенностей злокачественных гранулезоклеточных опухолей.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ клинических и морфологических данных из медицинской документации Гродненского областного онкологического диспансера всех 40 случаев заболевания гранулезоклеточными опухолями яичников в Гродненской области за период с 2007 по 2012 гг. Для определения наследственной предрасположенности к злокачественным новообразованиям яичников, ассоциированной с мутацией в гене BRCA1 11 женщинам с гранулезоклеточными опухолями проведено ДНК-тестирование методом мультиплексной полимеразной цепной реакции.

Определялись три основные наследственные мутации в гене BRCA1: 5382insC, 4153delA, C61G. Изоляция ДНК из лейкоцитов венозной крови выполнялась методом солевой экстракции. Молекулярно-генетическая диагностика проводилась в Лаборатории Генетики и Патоморфологии Поморского медицинского университета г. Щетин (руководитель – профессор Я. Любински) в рамках договора о научном сотрудничестве.

Результаты. Средний возраст на момент установления диагноза в исследуемой группе пациенток с гранулезоклеточными опухолями составил 54,7 лет (от 28 до 86 лет). В возрасте до 45 лет заболело 8 человек (20%), 45–60 лет – 17 (42,5%). Каждая третья женщина (32,5%) заболела в возрасте 47–53 года. Распределение больных по стадиям согласно классификации TNM было следующим: T 1NxM0–16 (40%), T 2NxM0–6 (15%), T 3NxM0–9 (22,5%), T 3NxM1–2 (5%). В 7 случаях стадия заболевания не установлена. В двух случаях имел место первично множественный синхронный рак – сочетание гранулезоклеточной опухоли яичника с аденокарциномой эндометрия у пациенток 64 и 78 лет.

У одной пациентки спустя два года после лечения гранулезоклеточной опухоли яичников был диагностирован рак молочной железы. Основной метод лечения гранулезоклеточных опухолей – хирургический в объеме экстирпации матки с придатками со срочным гистологическим исследованием и интраоперационное стадирование процесса. Однако у молодых пациенток с гранулезоклеточными опухолями нередко возникает вопрос о сохранении репродуктивной функции, в связи с чем, особый интерес представляет анализ результатов лечения.

В исследуемой группе удаление матки с придатками было выполнено 31 больной (78%), при этом в 4 случаях при повторных оперативных вмешательствах. Двухсторонняя аднекэктомия проведена 3 женщинам, частичное удаление опухоли в связи с распространенностью процесса – одной пациентке. Органосохраняющие операции выполнены двум молодым женщинам в Республиканском научно-практическом центре онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова. Большинство оперативных вмешательств (65%) было проведено в отделении онкогинекологии УЗ «Гродненская областная клиническая больница», в 11 случаях оперативное лечение проводилось в гинекологических отделениях городских больниц и ЦРБ (28%). Химиотерапевтическое лечение в по-

слеоперационном периоде было проведено 21 женщине. За период наблюдения умерло 6 больных (15%). В течение года после установления диагноза умерло 3 женщины. Анализ медицинской документации показал, что причиной их смерти была поздняя диагностика, одна пациентка умерла от осложнений после хирургического лечения. Таким образом, в большинстве случаев клиническое течение гранулезоклеточных опухолей благоприятное.

ДНК-тестирование на носительство трех наиболее распространенных в Гродненском регионе мутаций в гене BRCA1 показало отсутствие связи гранулезоклеточных опухолей с нарушениями функции данного гена. Ни одна из мутаций не обнаружена в исследуемой группе женщин с гранулезоклеточными опухолями, тогда как связь этих мутаций с эпителиальными злокачественными опухолями имеет место в 15–20% случаев.

Выводы. Гранулезоклеточные опухоли яичников чаще наблюдаются в пери- и постменопаузальном периоде, каждый третий случай диагностируется в возрасте 47–53 года. Клинические особенности течения заболевания, возможность проведения органосохраняющих операций, благоприятный прогноз течения заболевания, даже при выявлении распространенных форм и отказа от химиотерапии, диктуют необходимость индивидуального подхода к таким пациентам.

Мутации в гене BRCA1 и их связь с развитием опухолей яичников

Савоневич Е.Л.¹, Кеда В.В.², Савко Л.Л.², Ошурек О.С.³, Гронвальд Я.³

Место работы: 1. УО «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Беларусь; 2. УЗ «Гродненская областная клиническая больница», г. Гродно, Беларусь; 3. Поморский медицинский университет г. Щецина, Польша

e-mail: elena@savonevich.com

Высокая летальность, длительное бессимптомное течение, отсутствие доступного высокоинформативного специфического и чувствительного метода ранней диагностики обуславливает актуальность проблемы рака яичников и диктует необходимость проведения дальнейших исследований в данном направлении. В последнее время решение этих задач во многом связывают с медико-генетическими исследованиями, направленными на изучение роли наследственной предрасположенности к развитию рака яичников, особенностей его клинического течения и выявление лиц с потенциально высоким риском развития злокачественной опухоли. Очевидна необходимость разработки новых программ, направленных на профилактику и раннюю диагностику рака яичников среди различных групп населения с наследственной предрасположенностью. На сегодняшний день наиболее подробно изучена связь наследственных форм рака яичников с мутациями в гене BRCA1. Популяционная частота мутаций в гене BRCA1 в различных странах по данным литературы составляет 0,2–2%. BRCA1-ассоциированные раки яичников составляют 5–20% всех случаев этого заболевания в мире, а так же поломка в гене BRCA1 может стать причиной развития рака молочной железы и колоректального рака. Дефекты гена BRCA1 характеризуются высокой пенетрантностью (до 80%) и широкой географической распространенностью. Вероятность развития рака у носителя мутации в гене BRCA1 существенно повышается

ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

с возрастом и достигает 60–90%. Однако, мутации *de novo* возникают в гене BRCA1 очень редко и это, вероятно, объясняет описанный в литературе «эффект основателя», когда в этнически гомогенных популяциях населения всего несколько мутаций составляют абсолютное большинство повреждений гена BRCA1. Эти генетические дефекты передаются из поколения в поколение и специфичны для определенных групп, населяющих определенную территорию. В ряде научных исследований установлено, что среди женщин славянской этнической группы 90% всех повреждений гена BRCA1 представлены тремя мутациями: 5382insC, 300T>G (C61G), 4153delA.

Целью данного исследования явилось определение распространенности трех основных наследственных мутаций в гене BRCA1 (5382insC, 300T>G (C61G), 4153delA) среди различных групп населения Гродненской области и выявление клинических особенностей BRCA1-ассоциированного рака яичников.

Материалы и методы. Было исследовано 853 образца пуповинной крови новорожденных (последовательные случаи), которые родились в родильных домах г. Гродно. Среди обследованных было 417 девочек и 436 мальчиков. Проведено исследование 158 последовательных первичных случаев заболевания раком яичников после хирургического лечения с гистологическим исследованием опухолей независимо от возраста и семейного анамнеза женщин. Все пациентки постоянно проживали в Гродненском регионе и проходили лечение в 2008–2011 гг в онкологическом диспансере Гродненской областной клинической больницы.

Условиями включения в группу исследования было наличие злокачественной опухоли яичников эпителиального генеза и получение письменного информированного согласия пациентки на проведение обследования. Средний возраст женщин на момент установления диагноза рака яичников составил 56,2 лет (от 27 до 81 года). В группу сравнения были включены 80 практически здоровых женщин в пери- и постменопаузе без хирургических вмешательств на матке и придатках при условии отсутствия случаев онкологических заболеваний в семейном анамнезе.

Средний возраст женщин в группе сравнения – 63 года, средний возраст менопаузы – 49 лет, среднее количество родов в анамнезе – 2. Данные семейного анамнеза получены при анкетировании пациенток. Изоляция ДНК из лейкоцитов венозной крови выполнена методом солевой экстракции. ДНК-тестирование проводилось методом ПЦР. Определялись три мутации в гене BRCA1: 5382insC, 4153delA, C61G. Исследования выполнены в Лаборатории Генетики и Патоморфологии Поморского медицинского университета г. Шетин.

Результаты. Проведенный молекулярно-генетический анализ выявил наличие одной из трех мутаций с так называемым «эффектом основателя» в гене BRCA1 у 9 новорожденных в Гродненской области, что составляет 1,1% и указывает на достаточно высокую распространенность этих мутаций в популяции населения на западе Беларуси. Обращает внимание, что среди мальчиков распространенность носительства мутации была выше, чем среди девочек и составила соответственно 1,15% и 0,94%. Самой распространенной среди населения является мутация BRCA1 5382insC. Она обнаружена у 7 из 9 новорожденных в Гродненской области (78%).

Мутация BRCA1 4153delA была установлена в 1 случае (11%), как и мутация BRCA1 C61G (11%). В группе сравнения ни у одной из 80 женщин мутации в гене BRCA1 не выявлены. Среди женщин с раком яичников одна из трех основных мутаций

в гене BRCA1 была обнаружена у 25 из 158 (15,8%). Наиболее распространена среди пациенток с раком яичников в Гродненском регионе мутация BRCA1 5382insC – ее диагностировали у 15 больных, мутацию BRCA1 4153delA – в 8 случаях и только у двух пациенток выявлена мутация BRCA1 C61G.

Средний возраст развития злокачественной опухоли у 25 женщин с наследственным раком яичников составил 53,9 (от 41 до 79) лет, тогда как средний возраст заболевания остальных 133 пациенток без установленной мутации в гене BRCA1 был 56,6 (от 27 до 81) лет. Носителями мутации в гене BRCA1 были 13 из 58 (22,4%) женщин, заболевших раком яичников в возрасте до 50 лет. Среди пациенток, у которых рак яичников диагностирован в возрасте после 50 лет, носителями мутации в гене BRCA1 были лишь 12% женщин.

Из 25 больных с наследственным раком яичников, ассоциированным с мутацией в гене BRCA1, только у восьми (32%) имел место отягощенный семейный анамнез по раку молочной железы и раку яичников. Мутации в гене BRCA1 обнаружены только у каждой третьей пациентки с отягощенным семейным анамнезом по раку яичников и раку молочной железы (30,8%). Среди 132 больных раком яичников с отсутствием случаев заболевания раком яичников и/или раком молочной железы в семейном анамнезе мутация в гене BRCA1 была диагностирована в 12,9% случаев. Проведенный анализ показал отсутствие очевидной связи наследственного рака яичников, ассоциированного с мутацией в гене BRCA1, с семейным онкологическим анамнезом и молодым возрастом на момент манифестации заболевания.

Распределение пациенток по стадиям согласно классификации TNM было следующим: T 1cNxM0–2 (8%), T 3NxM0–21 (84%), T 3NxM1–2 (8%). В большинстве случаев были поражены оба яичника и опухоли достигали больших размеров (до 50 см в диаметре). По результатам гистологического исследования все опухоли у носительниц мутации в гене BRCA1 были серозными аденокарциномами. В большинстве случаев имела место низкая степень дифференцировки опухоли.

Выводы. Носителями мутации в гене BRCA1 являются более 1% населения Гродненской области. Наследственный BRCA1-ассоциированный рак яичников установлен в 15,8% последовательных случаев и имеет ряд клинических особенностей, которые могут быть использованы как критерии отбора пациентов для обследования. Особое значение в диагностике приобретает мутация BRCA1 5382insC, как самая распространенная в западном регионе Беларуси.

Очевидно, что своевременное проведение молекулярно-генетической диагностики имеет пожизненную информационную ценность, обеспечивает подтверждение генетической предрасположенности к определенным онкологическим заболеваниям, оценку риска развития патологии у прямых родственников, позволяет определить тактику ведения, возможность профилактики и ранней диагностики.

Опыт химиоэмболизации маточных артерий при местнораспространенном раке шейки матки

Пирогова М. С., Губенко И. М., Акинфиев Д. М., Оводенко Д. Л., Хабас Г. Н., Гайлиш Ю. П.

Место работы: ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

e-mail: m_pirogova@oparina4.ru

ОПУХОЛИ ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ХИРУРГИЯ)

Цель. Оценить предварительные результаты применения химиоэмболизации маточных артерий в комплексном лечении пациенток при местнораспространенном раке шейки матки (РШМ).

Актуальность. Ежегодно в мире впервые выявляется около 500 000 больных раком шейки матки, из которых почти половина (48%) составляют группу, имеющую неблагоприятный (IIb–IV стадии) прогноз (European health for all database (HFA-DB) \ World Health Organization Regional Office for Europe Updated: January 2011). Этот факт и формирует высокий уровень одногодичной летальности, достигающей 20%. Лучевая терапия продолжает оставаться основным видом лечения при местнораспространенных стадиях рака шейки матки и, несмотря на её совершенствование, не позволяет сколь-нибудь эффективно продвигаться в этой проблеме.

С начала 2000 года в мировой литературе все чаще появляются публикации о возможностях химиотерапии в качестве адъювантного или индукционного вариантов лечения при запущенных стадиях рака шейки матки. Накопленный, за прошедшее десятилетие опыт в этом направлении показал преимущества современных препаратов в комплексной терапии рака шейки матки. Учитывая значимость ангиогенного фактора при больших объемах опухоли шейки матки, что имеет место при местнораспространенном варианте, мы предприняли попытку химиоэмболизации маточных артерий, как варианта неoadъювантной терапии.

Материалы и методы. На базе НЦАГиП им. акад. В. И. Кулакова, в коллективе с авторами статьи, была применена методика суперселективной эмболизации маточных артерий с использованием химиопрепарата Карбоплатин. В исследования серии случаев включены 5 больных раком шейки матки стадий T1b2N0M0 – T2b N1M0. Средний возраст больных составил $35,0 \pm 2,3$ года. Гистологическая форма опухоли – неороговевающий плоскоклеточный рак шейки матки.

Результаты. После рентгеноэндоваскулярной химиоэмболизации у всех пациенток было отмечено прекращение кровянистых выделений из половых путей, через 3 недели наблюдения – уменьшение размеров опухоли на 60–80%, лекарственный патоморфоз в узле II–III степени, что позволило провести всем больным адекватное радикальное хирургическое лечение.

Было проведено оперативное лечение в объеме радикальной гистерэктомии River III (type C2). Следует отметить полное отсутствие побочных эффектов от системного воздействия химиопрепарата. Далее пациенты продолжили протокол лечения в соответствии со степенью распространенности заболевания.

Выводы. Разработка и применение рентгеноэндоваскулярной суперселективной химиоэмболизации маточных артерий с использованием Карбоплатина представляется весьма интересным и перспективным направлением, находящимся в фокусе последних интервенционных тенденций. Данная методика позволяет в короткие сроки с наименьшими осложнениями выполнить радикальное оперативное вмешательство при местнораспространенном РШМ. Коллектив авторов продолжит изучение методики и последующий тщательный анализ клинического материала.

Место эндоскопии в лечебном алгоритме рака большого дуоденального соска

Дворниченко В. В.¹, Назарова Д. В.¹, Расулов Р. И.¹, Сонголов Г. И.²

Место работы: 1. Медицинская академия последипломного образования; 2. Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск

e-mail: gava2010@yandex.ru

Цель. Оценить результаты лечения больных с синдромом острой окклюзии желчных протоков при раке большого дуоденального соска (БДС) с применением эндоскопической аппаратуры.

Материалы и методы. За период 2010–2014 гг. в Иркутском областном онкологическом диспансере выполнено 34 эндоскопических ретроградных панкреатохолангиографий (ЭРПХГ) 30 больным раком БДС. Диагностические и лечебные манипуляции проводили при помощи аппарата JF-1T10 «OLYMPUS». Показаниями для ЭРПХГ являлись наличие механической желтухи, данные за патологию в протоковой системе поджелудочной железы. Процент удачных канюляций составил 86,7%, в остальных наблюдениях неудачи были связаны с наличием дивертикулов двенадцатиперстной кишки и обтурационного опухолевого процесса.

Результаты. В 26 (86,7%) наблюдениях установлен стенозирующий вариант рака БДС и в 4 (13,3%) – опухолевая окклюзия. Клинически в 22 наблюдениях преобладала механическая желтуха без инфекционной составляющей, в 7 – механическая желтуха с гнойным холангитом и в 1 – механическая желтуха с гнойным холангитом и острым панкреатитом. В 2 наблюдениях декомпрессия достигнута папиллосфинктеротомией, в 24 – выполнено стентирование внепеченочных желчных протоков.

Эффективность эндоскопических вмешательств достигнута у 26 пациентов. В 4 наблюдениях выполнена повторная эндоскопия с лечебными манипуляциями – без эффекта; в последующем им выполнена чрезпеченочная холангиостомия. В 6 наблюдениях при гнойном холангите после устранения билиарной гипертензии был установлен наружный назобиларный дренаж.

Прогноз лечения больных зависел от сроков и адекватности эндоскопического вмешательства, тяжести течения инфекционного процесса. Один летальный исход не зависел от выполненных манипуляций и был обусловлен прогрессированием острой печеночной недостаточности в сочетании с деструктивным панкреатитом.

Заключение. Эндоскопические приемы позволяют визуализировать опухолевый процесс в БДС, проводить лечебно-диагностические манипуляции, быстро и качественно купировать механическую желтуху, санировать гнойный холангит.

Функциональные результаты гастрэктомии с различными вариантами восстановления непрерывности пищеварительного тракта при раке желудка

Уваров И. Б.

Место работы: Клинический онкологический диспансер № 1, г. Краснодар, Российская Федерация

e-mail: uvarovivan@yandex.ru

Цель. Оптимизация реконструктивного этапа гастрэктомии (ГЭ) у пациентов с раком желудка путем сравнительной кли-

ОПУХОЛИ ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ХИРУРГИЯ)

нической и морфофункциональной оценки операции в зависимости от варианта эзофаго-энтероанастомоза (ЭЭА) и схемы восстановления непрерывности пищеварительного тракта.

Материалы и методы. В исследование включили 133 пациента с аденокарциномой желудка I–III стадий, в перенесших хирургическое лечение в объеме ГЭ, в сроки более 12 месяцев после операции (12–32 мес., медиана 16,7 мес.). Пациентов разделили на группы в зависимости от варианта ЭЭА и схемы восстановления непрерывности ЖКТ. I группа – 83 пациента с арефлюксным концево-петлевым ЭЭА (КПЭЭА) оригинальной конструкции; группа разделена на 3 подгруппы: Ia – без включения ДПК (27 пациентов), Ib – еюногастропластика (ЕГП) с включением ДПК и частичным шунтированием дуоденального пассажа (41 человек), Ic – ЕГП с полным включением ДПК (15 человек). II группа – 32 пациента с ЭЭА конец в бок. III группа – 18 пациентов с ЭЭА по Ру. Оценивали наличие и степень выраженности симптомов демпинг-синдрома (ДС), рефлюкс-эзофагита (РЭ); при эндоскопическом исследовании – наличие и степень эзофагита, а также морфологических маркеров воспалительного процесса в биоптатах слизистой оболочки (СО) нижней трети пищевода.

Результаты. ДС зарегистрирован у 16 обследованных пациентов I группы (19,2%), 17 пациентов II группы (53,1%) и 7 пациентов III группы (38,9%) ($P_{I-II} < 0,001$; $P_{I-III} < 0,05$). Среди 27 обследованных подгруппы Ia ДС зарегистрирован у 11 (40,7%) (различия с группами II и III статистически не значимы). В подгруппах Ib и Ic ДС зарегистрировали у 4 (9,7%) и 1 (6,7%) пациентов соответственно ($P_{Ib-II} = 0,1$; $P_{Ib-III} = 0,1$; $P_{Ic-II} = 0,1$; $P_{Ic-III} < 0,001$). Демпинг-синдром тяжелой степени у больных с включением в пассаж ДПК не отмечался, средней степени тяжести – развился у 4 (14,8%) больных Ia, у 1 больного (2,4%) Ib подгрупп ($P_{Ia-Ib} < 0,05$) и ни в одном случае – при полном включении ДПК в пассаж (подгруппа Ic) ($P_{Ia-Ic} < 0,05$).

В целом в I группе ДС тяжелой степени отмечен у 2 (2,4%) пациентов, во II группе у 5 (15,6%), в III – у 3 (16,7%) ($P_{I-II} = 0,1$; $P_{I-III} < 0,05$). Изжога, как основной симптом РЭ, выявлена у 4 (4,8%) обследованных I группы, при этом у 3 человек симптом имел слабую выраженность, а у 1 – умеренную, различий по подгруппам не отмечено. В группе II частота выявления изжоги составила 62,0% ($P_{I-II} < 0,001$), у $\frac{2}{3}$ пациентов изжога носила умеренный и выраженный характер. В III группе изжога слабой и умеренной степени наблюдалась у 3 (16,7%) ($P_{II-III} < 0,001$; различия между I и III группами статистически незначимы). При эндоскопической оценке СО пищевода в группе I явления эзофагита выявлены у 7 пациентов (8,4%), причем у 5 из них (6,0%) носили характер катарального. В группе II эрозивный эзофагит имел место в 37,5% случаев, катаральный – в 18,8%, язвенный – в 6,3% исследований.

У 50% больных просвет ЭЭА зиял, неполное смыкание отмечено еще в 26,0% случаев. Только у 20,0% пациентов СО ЭЭА выглядела неизменной, у остальных имели место воспалительные явления различной степени – гиперемия, отек, гиперпластические разрастания, эрозии, паралигатурные изъязвления. В III группе катаральный эзофагит зарегистрирован у 4 (22,2%), эрозивный – у 2 (11,1%) пациентов. Морфологическое исследование биоптатов СО нижней трети пищевода позволило констатировать значительно большую частоту и выраженность морфологических маркеров хронического эзофагита у больных II группы. Морфологические критерии острого воспалительного процесса в целом по группе при-

существовали в трети исследованных препаратов, в 5 случаях (26,3%) обнаружена морфологическая картина эрозии, в 2 биоптатах (10,5%) – хронической язвы пищевода.

В 21,1% биоптатов выявлены атрофические процессы в СО пищевода. В 2 (10,5%) препаратов имелись фиброзные изменения. Паракератоз и папилломатоз обнаружены в 5,3% биоптатов, в 3 (15,8%) имела место метаплазия. У пациентов I и III групп частота и степень выраженности морфологических маркеров эзофагита, деструктивных процессов, атрофических, диспластических и метапластических явлений оказалась значительно ниже, чем среди больных с ЭЭА конец в бок.

Заключение. Частота и тяжесть клинических, эндоскопических и морфологических проявлений РЭ у пациентов в отдаленные сроки после ГЭ зависят от конструкции ЭЭА.

Наибольшей частотой и степенью тяжести рефлюксных осложнений характеризуется ГЭ с ЭЭА конец в бок. У пациентов с арефлюксным КПЭЭА и ЭЭА по Ру частота и тяжесть проявлений РЭ значительно ниже, что позволяет рассматривать эти анастомозы как предпочтительные при выполнении реконструктивного этапа ГЭ. Включение в пассаж пищи ДПК при ЕГП способствует уменьшению частоты и тяжести ДС. Выполнение ЕГП с частичным или полным включением в пассаж ДПК показано у пациентов с потенциально благоприятным клиническим прогнозом заболевания.

Лечение больных резектабельными метастазами колоректального рака в печени с неблагоприятным прогнозом

Лазарев А.Ф.¹, Мамонтов К.Г.¹, Котельников А.Г.², Хайс С.Л.¹

Место работы: 1. Алтайский филиал ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН», г. Барнаул; 2. ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН», г. Москва

e-mail: khayss@mail.ru

Введение. Большинство больных метастазами колоректального рака в печени имеют множественные, билобарные метастазы, размеры метастаза более 5 см, что сокращает возможности резекционной хирургии. Как правило, таким больным назначается длительная химиотерапия. После 4–6 месяцев лечения большинство больных переводят на менее интенсивную, так называемую «поддерживающую» терапию. Результаты такого лечения не могут считаться удовлетворительными, поскольку едва достижима 3-летняя выживаемость.

Достоверно лучшие результаты общей выживаемости наблюдаются у пациентов, получавших послеоперационную химиотерапию, поэтому комбинированное лечение признается современным стандартом лечения. Больные с неблагоприятным прогнозом, составляют наиболее многочисленную группу, которые подвергаются исключительно системной химиотерапии, даже когда метастазы представляются изначально резектабельными.

Неудовлетворительные результаты лечения больных резектабельными метастазами с неблагоприятным прогнозом требуют дополнительных клинических исследований, сравнивающих различные методы и виды лечения. Стратегия лечения операбельных пациентов с неблагоприятными факторами прогноза не разработана и является объектом изучения как с точки зрения выработки показаний к хирургическому лечению, так и с точки зрения определения роли периоперационной химиотерапии.

ОПУХОЛИ ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ХИРУРГИЯ)

Цель исследования. Улучшение результатов лечения больных резектабельными метастазами колоректального рака в печени с неблагоприятным прогнозом.

Материалы и методы. Рассматривается 363 больных метастазами колоректального рака в печени с неблагоприятным прогнозом, которым проведено комбинированное лечение: адъювантная системная химиотерапия – 173 больных, периперационная системная – 63, периперационная регионарная – 127 больных. Все резекции печени в силу значительного поражения печени носили исключительно обширный характер.

Результаты. Стандартная правосторонняя или левосторонняя гемигепатэктомия выполнена 178 (49%) пациентам. Гемигепатэктомия с резекцией контрлатеральной доли печени 76 (21%) больным. Расширенная правосторонняя или расширенная левосторонняя гемигепатэктомия, включая перенесших расширенную гемигепатэктомию с резекцией оставшейся части печени – 109 (30%). Объективный эффект достигнут у 13 (21%) пациентов в группе дооперационной системной химиотерапии, в группе регионарной химиотерапии без бевацизумаба – у 56 (44%), различия статистически достоверны ($p=0,02$). Добавление к лечению бевацизумаба в подгруппе регионарной химиотерапии увеличивает частоту эффекта до 64%, что статистически достоверно выше частоты эффекта в группе дооперационной системной химиотерапии ($p=0,001$).

Наибольшая частота объективного эффекта отмечена при размерах метастазов менее 5 см в группе дооперационной регионарной химиотерапии с бевацизумабом – 73%, что достоверно превосходит эффективность дооперационной системной и регионарной химиотерапии без бевацизумаба. Летальность среди оперированных – 3%. Уровень осложнений – 54%. Послеоперационная летальность и осложнения в сравниваемых группах статистически не различались. Объем интраоперационной кровопотери в сравниваемых группах статистически достоверно не различался.

Общая 5-летняя выживаемость после комбинированного лечения с адъювантной химиотерапией – $31 \pm 5\%$, медиана – 34 мес, что достоверно превосходит показатели 5-летней выживаемости после хирургического лечения ($17 \pm 5\%$), медиана – 15 мес, лекарственного лечения (5-летняя выживаемость не достигнута, медиана – 14 мес), комбинированного лечения с периперационной системной химиотерапией ($15 \pm 5\%$), медиана – 16 мес, статистически недостоверно превосходит 5-летнюю выживаемость после комбинированного лечения с периперационной регионарной химиотерапией ($24 \pm 5\%$), медиана – 33 мес. При многофакторном анализе выявлено 4 независимых фактора, которые достоверно оказывают влияние на общую выживаемость: множественные метастазы ($p=0,004$), билобарное поражение печени ($p=0,04$), размер наибольшего метастаза более 5 см ($p=0,001$), наличие внепеченочных метастазов ($p=0,002$).

Общая 5-летняя выживаемость в группах комбинированного лечения с множественными метастазами в печени: $35 \pm 4\%$, медиана – 29 месяцев, что статистически достоверно превосходит показатели 5-летней выживаемости больных после хирургического лечения ($p = 0,0005$) и системной химиотерапии операбельных больных ($p = 0,00005$). Общая 5-летняя выживаемость с билобарным поражением печени в группах комбинированного лечения статистически достоверно превосходит показатели 5-летней выживаемости после хирургического лечения ($p = 0,000001$) и системной химиотерапии операбельных больных ($p = 0,00008$).

Показатели общей 5 – летней выживаемости в группах комбинированного лечения с наибольшим размером метастаза более 5 см: $21 \pm 2\%$, медиана – 28 месяцев, достоверно превосходят показатели 5 – летней выживаемости при наибольшем размере метастаза более 5 см после хирургического лечения ($p = 0,0007$) и системной химиотерапии ($p = 0,0001$). Показатели 5 – летней выживаемости в группах комбинированного лечения при наличии внепеченочных метастазов составили: $12 \pm 4\%$, медиана – 29 месяца, что статистически достоверно не отличается от показателей 5 – летней выживаемости после хирургического лечения ($p = 0,16$).

Заключение. При резектабельных метастазах колоректального рака в печени с неблагоприятным прогнозом показано комбинированное лечение с адъювантной системной химиотерапией. При исходно нерезектабельных метастазах в печени в отсутствии внепеченочных проявлений заболевания лечение следует начинать с регионарной химио- и биотерапии. При исходно нерезектабельных метастазах с внепеченочными проявлениями заболевания лечение должно начинаться с системной химиотерапии.

Влияние аппаратного плазмафереза на острофазовые белки плазмы крови в подготовке к панкреатодуоденальной резекции при раке головки поджелудочной железы

Франциянц Е. М., Козлова Л. С., Мезенцев С. С., Газиев У. М.
Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель исследования. Изучение динамики общей активности трипсиновых протеиназ (ОТП), калликреин-кининовой системы (ККС) и универсальных ингибиторов плазмы крови в период подготовки больных раком головки поджелудочной железы (РГПЖ) к панкреатодуоденальной резекции (ПДР).

Материалы и методы. Исследовалась цитратная плазма крови от 39 больных РГПЖ, поступивших на лечение в РНИОИ и ранее перенесших чрескожную чреспеченочную холангиостомию по Сельдингеру (ЧЧХС, 1 этап подготовки) по поводу механической желтухи (МЖ), вызванной РГПЖ (22 мужчины, 17 женщин, 45–76 лет, Т 2–4N0M0). Аппаратный плазмаферез (АПФ) проводился через 2 недели после ЧЧХС и являлся 2 этапом подготовки к ПДР; плазма крови исследовалась в 1, 14, 30 сутки после процедуры.

Ферментативные реакции плазмы крови определяли спектрофотометрически, активность ингибиторов – методами ИФА с использованием стандартных тест-наборов. Полученные данные сравнивали с результатами исследования плазмы крови 39 практически здоровых доноров.

Результаты. Последствия МЖ были ликвидированы ЧЧХС, состояние больных улучшилось, АПФ должен был завершить результат, однако после детоксикации обнаружено резкое усиление активности протеиназ с сохранением их дисбаланса. Данные 1 суток после АПФ свидетельствуют о достоверном усилении протеолиза на 47,3% и кининогенеза на 21,2% ($p<0,01$), сравнительно с 1 этапом подготовки. В изменениях коэффициентов «общие трипсиновые протеиназы/общий калликреин» (ОТП/ОК) и «общий прекалликреин/общий калликреин» (ОПК/ОК) достоверных различий со периодом

ОПУХОЛИ ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ХИРУРГИЯ)

перед АПФ не установлено, «общий калликреин/карбокси-пептидаза» (ОК/КОП) – достоверно повышался на 37,2% за счёт роста общего калликреина ($p < 0,01$).

С точки зрения многофакторной активации ККС это объяснимо: в циркуляции сохранялись активирующие белки, иммунные комплексы, раковые токсины, клетки крови и т.д. Вне организма, в процессе осуществления АПФ, при общем положительном действии детоксикации, отрицательно заряженные поверхности оказывали активирующее действие на калликреины и остальные острофазовые белки.

Не исключена травма клеток крови, которые возвращались в организм, что также влияет на состояние белков крови. При возросшей активности ОК, постоянной активности КОП количество свободного брадикинина и время его существования в крови возрастало, что влекло за собой вполне определённые последствия: падение АД, увеличение кровенаполнения сосудов микроциркуляторного русла, изменение реологических свойств крови, нарушение барьерных функций тканей, активацию и дегрануляцию лейкоцитов и т.д.

Через 2 недели после АПФ ОТП резко снижалась на 67,9% при сохранении нормального запаса ОПК и росте ОК на 68,9% ($p < 0,001$). Процентное содержание ОК в ОТП возрастало до 45,3% при значительном снижении остальных протеиназ. Трипсиновые протеиназы без учёта калликреинов (ТП) были достоверно менее активны, чем даже в норме (на 24,1%, $p < 0,01$), что считали положительным признаком.

Повышение ОТП в этот срок состоялось исключительно за счёт увеличения общего калликреина. Мы предполагаем, что снижение активности протеолиза началось ранее, скорее всего на 7–10 сутки после АПФ, когда завершаются адаптационные процессы после проведённого лечебного мероприятия, а на 14 день наступил максимально возможный при патологии «покой» в белковом метаболизме. Однако, при наличии злокачественного процесса, эта ситуация не могла стабилизироваться, поскольку продолжалось воздействие опухоли на организм, и это доказывают последующие наблюдения.

Накануне ПДР, через 30 дней после АПФ, наблюдался резкий рост активности протеолиза, причём активация шла как со стороны ОК – на 44,9%, так и остальных трипсиновых протеиназ в 12,1 раза. Запасы ОПК также резко возросли в 3,3 раза, но КОП по-прежнему не изменялась. Наблюдаемые изменения в системе протеолиза способствовали увеличению в кровотоке количества вазоактивных веществ (в данном случае кининов), это вело к дальнейшим изменениям кровообращения, микроциркуляции, повышению проницаемости сосудистой стенки, угнетению тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования, что углубляет эндотоксикоз.

Анализ универсальных ингибиторов показал непродолжительное время стабильно повышенной ингибиторной ёмкости крови: в 1 сутки после АПФ (15 день после ЧЧХС) она ещё сохранена. В последующие сроки наблюдения только $\alpha 2M$ оставался увеличенным, а содержание $\alpha 1PI$ постепенно и достоверно снижалось, не достигая даже фоновых значений ($p < 0,01$) перед ПДР (30 сутки наблюдения).

Уменьшение количества $\alpha 1PI$ в 2,4 раза через 1 месяц после АПФ, относительно 1 суток, непосредственно перед ПДР, может способствовать хронизации эндотоксемии, что снизит эффективность эндогенной защиты во время и после ПДР, усугубит тяжесть состояния больного, возможно, создаст условия для развития осложнений.

В итоге, после каждого из двух этапов подготовительных

процедур больных РГПЖ (ЧЧХС и АПФ) рост ингибиторной ёмкости крови наблюдался только в 1 сутки, при сохранении и активации протеолиза. Наблюдение динамики острофазовых белков в период подготовки больных к ПДР показало наименьшую активность протеолиза и сохранение нормального содержания прекалликреина только к 14 дню после АПФ. Выработка прекалликреинов является высокочувствительным тестом, характеризующим белковосинтетическую функцию печени, которая угнетается при патологическом состоянии органа и первой восстанавливается после лечения. Метаболические нарушения ферментов, нарушение барьерных функций тканей и органов в результате изменения гемодинамики и микроциркуляции, нарушение детоксикационной функции печени, благодаря МЖ и её последствиям, в совокупности ведут к токсемии, что вновь усугубляет картину ферментных нарушений. В результате, даже после ЧЧХС и при успешном проведении АПФ, процесс идёт по замкнутому кругу, и это подтверждают результаты настоящего исследования.

Заключение. Проведение АПФ показало, что нормализация активности протеолиза в плазме крови формируется только к концу второй недели после этой процедуры. Однако к этому же сроку уменьшается активность $\alpha 1PI$, которому давно придаётся большое значение в мобилизации противоопухолевой защиты. Последующая динамика $\alpha 1PI$ свидетельствует о том, что эндогенный белок угнетается токсинами опухоли. Таким образом, резкая активация протеолиза в плазме крови больных РГПЖ к 30 дню наблюдения (накануне ПДР), сохранение высокого $\alpha 2M$ и падение $\alpha 1PI$ ниже фоновых цифр, свидетельствуют о потере протеиназо-ингибиторного равновесия в сроки, превышающие 2-недельный период после АПФ.

В следующий 2-недельный период, перед ПДР, в организме-опухоленосителе уже преобладают процессы дегградации и интоксикации, что увеличивает опасность осложнений в послеоперационный период. И ЧЧХС, и АПФ оказывают ожидаемое действие на состояние крови и печени, но при наличии злокачественной опухоли эффект не может наступить сразу и быть продолжительным. По итогам настоящего исследования, при составлении плана подготовительных процедур перед ПДР (ЧЧХС, АПФ) следует учитывать приведённые результаты и планировать ПДР не позднее 10–14 дня после АПФ, а не через 1 месяц, как осуществлялось ранее.

Исследование плазминогена, плазмينا и универсальных ингибиторов в ткани опухоли перстневидноклеточного рака желудка

Козлова Л. С., Франциянц Е. М., Колесников Е. Н., Ильченко С. А.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Ключевые процессы в морфогенезе тканей (миграция и пролиферация клеток) стимулируются плазмином (П), активация плазминзависимого протеолиза обеспечивает стимуляцию ангиогенеза и неоваскуляризацию новообразований, плазминоген (ПГ) является единственным источником ангиостатина.

Цель исследования. Изучение системы ПГ-П, ингибиторов широкого спектра действия $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора

ОПУХОЛИ ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ХИРУРГИЯ)

(α -1ПИ) и α -2-макроглобулина (α -2М) в опухолевом материале перстневидноклеточного рака желудка (ПкРЖ).

Материалы и методы. Исследована ткань ПкРЖ от 26 больных (14 мужчин, 12 женщин, 44–72 лет, Т 3N0–2M0). Ткань желудка, взятую во время операции, разделяли на опухолевый очаг (ТО), перифокальную зону (ПЗ) опухоли и условно здоровую ткань – линию резекции (ЛР). Определение ПГ, П, α -1ПИ, α -2М проводили методами ИФА на стандартных тест-наборах.

Результаты. Содержание ПГ в ткани из ПЗ и ТО было ниже, чем в ЛР в 3 и 1,8 раза соответственно, а активность П была выше только в ТО в 2,3 раза. В ПЗ активность П практически не отличалась от таковой в ЛР. Количество α -1ПИ также было повышено в ТО в 1,8 раза, а в ПЗ – не отличалось от показателя ЛР. Содержание α -2М определялось резко сниженным в обоих образцах: на 47,9% в ТО и в 3,9 раза в ПЗ, относительно ткани ЛР.

Процессы опухолевого ангиогенеза затрагивают не только ткань опухоли, но и прилежащие к ней участки подслизистой основы желудка. Многочисленными исследователями сообщалось, что сосудистая сеть этой области характеризуется аномальным строением, чрезмерной извитостью и патологической дилатацией. Более чем у половины больных обнаруживались капилляры, не защищенные базальной мембраной, образованные только одним слоем эндотелиальных клеток.

Всё это ослабляет защитный барьер желудка, т.к. создаются благоприятные условия для обратной диффузии H^+ -ионов из просвета желудка в его стенку и истощения буферной системы клеток слизистой желудка. Возникновение воспаления, тканевого ацидоза приводит к усилению продукции биологически активных веществ и специфических активаторов плазминогена.

В результате нарушается микроциркуляция, возникает ишемия слизистой оболочки, резко повышается проницаемость капилляров, что приводит к отеку и кровоизлияниям в слизистую оболочку, что ухудшает регенераторные свойства её эпителия. На этом фоне образование полей отрицательно заряженных поверхностей, токсическое влияние злокачественной опухоли опосредовано и непосредственно поддерживают длительную активацию и истощение ПГ, при дефиците которого П оказывает скорее повреждающее действие. В исследованных образцах ТО и ПЗ больных ПкРЖ соотношение ПГ/П в 3,9 и 3,2 раза соответственно ниже, чем в ткани ЛР.

Известно, что прорастание опухоли в окружающие ткани сопровождается локальной секрецией опухолевыми клетками протеолитических ферментов, расщепляющих белки межклеточного матрикса, тем самым создаются благоприятные условия для инвазии. Данные Г.Р. Лайнена свидетельствуют о том, что миграция клеток и формирование неоинтимы стимулируются компонентами матриксных металлопротеиназ, которые активируются в числе других и П-зависимыми механизмами.

Именно П необходим для активации латентных форм практически всех факторов роста, участвующих в ангиогенезе, особенно в условиях гипоксии. Важным фактором, стимулирующим ангиогенез, является инфильтрация тканей моноцитами и макрофагами, секретирующими факторы роста и протеиназы. Инвазия макрофагов регулируется урокиназой и её рецептором через плазмин. Ранее при ПкРЖ выявлено резкое увеличение общей клеточности инфильтрата, в основном, за счёт нейтрофилов и макрофагов.

Баланс ингибиторов с плазмином доказывает их дефицит и свидетельствует о длительно продолжающемся процессе роста и инвазии опухоли. Так α -1ПИ/П в ТО и ПЗ достоверно ниже на 25,3% ($p < 0,05$) и 16,3% ($p < 0,05$) соответственно, чем в ЛР, в связи с низким содержанием α -1ПИ. Баланс α -2М/П указывает на острую недостаточность физиологически пригодного универсального ингибитора, необходимого для контроля протеолитической активности: в ТО и ПЗ коэффициент снижен в 3,3 и 4,2 раза соответственно, относительно ЛР.

При длительном развитии процесса активность α -2М может изменяться, т.к. он взаимодействует с факторами роста и дифференцировки клеток, тем самым способствуя прогрессии опухоли. Снижение активности α -2М может служить критерием повышения злокачественности опухоли, которое проявляется инвазивным ростом и развитием метастазов.

Заключение. Повышенное содержание α -2М, установленное в ткани ЛР, очевидно, не является нормой. В органе, поражённом новообразованием высокой злокачественности (в данном случае – ПкРЖ) острофазные белки близлежащей условно здоровой ткани могут первыми реагировать на развитие неоплазмы. Высокая концентрация эндогенного α -2М, как острофазного белка, в ЛР являлась, скорее всего, показателем начала метаболических изменений, реакцией ещё не повреждённой ткани на развитие злокачественной опухоли в непосредственной близости. С другой стороны, высоко злокачественная опухоль может выделять белки повышенной агрессивности, способные проникать глубоко и в неповреждённые ткани.

Уменьшение концентрации α -2М в ТО и истощение этого ингибитора в ПЗ наступало вследствие длительно развивающегося патологического процесса, сохраняясь при этом в условно здоровой ткани, образуя, возможно, своеобразную защитную зону и для опухоли, и для окружающих тканей. Вывод. При развитии перстневидноклеточном раке желудка наблюдается истощение плазминогена в ткани опухоли и её перифокальной зоны с повышенной активностью плазмина в опухолевом очаге и острым дисбалансом ингибиторов во всех исследованных областях, включая линию резекции.

Усовершенствование методики диссекции паренхимы печени обычным зажимом

Ахаладзе Г. Г., Гребенкин Е. Н.

Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенодиагностики» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

e-mail: genbytu@mail.ru

Современные тенденции развития хирургии печени приводят к необходимости выполнения анатомических, сегменторентированных, органосохраняющих резекций, требующих пересечения большого объема паренхимы печени (бисегментэктомии, мезогепатэктомии). С целью уменьшения кровопотери и продолжительности вмешательства требуется разработка новых методов диссекции паренхимы.

Цель исследования. Улучшение непосредственных результатов обширных резекций печени, требующих пересечения большого объема паренхимы.

Материалы и методы. В клинике разработан новый метод диссекции паренхимы печени являющийся модификацией и усовершенствованием существующего ранее мето-

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

да раздавливания паренхимы печени обычным зажимом (Conventional clamp-crushing liver resection (CCLR)). В разработанной модификации применяется кровоостанавливающий зажим типа Бильрот, который через припаянный разъем подключается к генератору высокочастотного тока Метатом. С целью увлажнения линии диссекции к зажиму дополнительно прификсирована ирригационная трубка, через которую во время диссекции подается физиологический раствор натрия хлорида. Диссекция паренхимы производится без сосудистой изоляции удаляемой части печени.

Метод объединяет в себе такое преимущество clamp-crushing, как скорость диссекции, при этом позволяя уменьшить кровопотерю путем одномоментного заваривания тканей с помощью подключенного генератора высокочастотного тока и одномоментной ирригацией линии диссекции для предотвращения ожога остающейся паренхимы печени.

Бранши зажима применяются как для проваривания и разделения паренхимы печени, так и для выделения сосудистых структур, при этом отдельное лигирование требуется только для сосудов сегментарного диаметра (от 3 мм).

С применением данного метода выполнено 15 обширных резекций печени, включая 2 мезогепатэктомии. Для сравнения взяты ретроспективные данные 18 резекций выполненных при помощи би- и монополярной коагуляции и 7 резекций выполненных при помощи гармонического скальпеля. Оценивались такие показатели как интраоперационная кровопотеря и продолжительность операции.

Результаты. Средний уровень кровопотери оказался наименьшим в группе разработанного метода и составил $627,011 \pm 161,894$ мл. В группе коагуляции средний уровень кровопотери составил $811 \pm 225,088$ мл, в группе гармонического скальпеля $1652,29 \pm 624,507$ мл ($P=0.008$).

Продолжительность операции была наименьшей так же в группе разработанного метода и составил $301,67 \pm 26,084$ мин, в группе коагуляции средняя продолжительность вмешательства составила $360,15 \pm 29,316$ мин, в группе гармонического скальпеля – $386,14 \pm 40,409$ мин ($P=0.104$). Несмотря на отсутствие достоверной разницы отмечается отчетливая тенденция к сокращению продолжительности вмешательства в группе исследуемой методики.

Из 40 исследуемых резекций печени летальность отмечалась в 2 случаях (5%), в 1 случае летальный исход обусловлен развитием геморрагического шока, во втором – развитием полиорганной недостаточности. Оба летальных исхода отмечались в группе гармонического скальпеля. Основным нелетальным осложнением являлось развитие желчеистечений. Данное осложнение зафиксировано в 6 (15%) случаях, при этом в группе исследуемого метода желчеистечение развилось у 4 больных, в группе коагуляционного способа диссекции – у 2 пациентов.

Заключение. Разработанный метод CCLR является перспективным методом диссекции паренхимы печени, применение которого позволяет сократить время вмешательства, а так же достоверно уменьшить уровень кровопотери без выполнения сосудистой изоляции удаляемой части печени в том числе и при выполнении резекций требующих разделения большой площади паренхимы печени (например при выполнении мезогепатэктомий).

Способ полного кожно-мышечного укрытия имплантата при первичной одномоментной реконструкции молочной железы

Кешабян А. А., Шадрин А. К.

Место работы: «ГБУЗ Краевой Онкологический Диспансер № 1 МЗ Краснодарского края», г. Краснодар, Россия

e-mail: Shadrin_AK@mail.ru

Целью работы являлось изучение возможности достижения полного кожно – мышечного укрытия имплантата при первичной одномоментной реконструкции молочной железы, для предотвращения протрузии последнего в области кожного шва, и создания оптимальной формы и объема реконструированного органа.

Материалы и методы. В 2013, 2014, 2015 гг в 8 – м онкологическом отделении «ГБУЗ КОД № 1 МЗ КК» первичные реконструктивно – пластические операции были выполнены более, чем ста больным раком молочной железы T1–T2N0–T1M0. У 14 пациенток опухолевый узел располагался в нижнелатеральном квадранте молочной железы, с удалением от кожи в глубину органа менее 2-х см., что являлось показанием для резекции кожи над опухолью.

Одним, из самых неприятных осложнений, при первичной одномоментной реконструкции молочной железы с помощью имплантатов, несомненно, является – протрузия последнего, и, как следствие, последующее удаление изделия. В результате, приходится идти на вторичную реконструкцию, через 6–12 месяцев, после окончания лучевого лечения и курсов химиотерапии. Существует ряд общеизвестных правил, которых надо придерживаться, чтобы максимально избежать этого осложнения. Одним из этих правил является то, что кожный шов не должен наслаиваться, либо пересекаться с мышечными швами “кармана” имплантата.

И, тем более, кожный шов никогда не должен находиться над самим имплантатом, не будучи отграниченным от него какой – либо другой тканью. Если опухоль находится в нижнелатеральном квадранте, и расстояние от неё до кожи железы таково, что кожу над опухолью необходимо иссекать, то кожный шов тогда получается в самом проблемном, в плане “укрытия” имплантата, месте молочной железы. А именно – большая грудная и зубчатая мышцы позволяют укрыть полностью только импланты малых размеров, и не у всех пациенток. Зачастую остаётся не укрытым именно нижнелатеральный квадрант.

Для реконструкций использовались как круглые эндопротезы, так и анатомической формы, позволяющие получить более естественную грудь. Двумя сходящимися полуовальными разрезами, окаймляющими опухоль, рассекается кожа молочной железы в нижнелатеральном квадранте, разрез продлевается по передней, либо средней аксиллярной линии краниально на 7–9 см. Радикальная кожесберегающая мастэктомия выполняется используя элетронож, по обычной методике, с удалением клетчатки с лимфоузлами 3-х коллекторов. Из большой грудной и передней зубчатой мышц формируется карман для имплантата.

В нижнелатеральной части кармана, как раз в проекции кожного разреза над местом расположения опухоли, имплантат остаётся не укрытым. Далее формируется торako- абдоминальный дермальный лоскут в проекции переднее – боковой рёберной поверхности туловища, размером, достаточным для укрытия поверхности имплантата между краем зубчатой

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

мышцы и субмаммарной складкой. Разметка лоскута формируется с таким расчётом, чтобы линия шва при ушивании кожного дефекта «легла» по субмаммарной борозде. Выкроенный кожный лоскут деэпидермизируется, укладывается на «не укрытую» часть имплантата. В краниальной части мышечного кармана лоскут фиксируется узловыми швами к зубчатой и большой грудной мышцам, каудально – лоскут фиксируется к субмаммарной складке.

Результаты. При ушивании кожи молочной железы – разрез оказывается над деэпидермизированным кожным лоскутом. Тем самым протрузия имплантата в проекции кожного разреза исключается. У прооперированных по подобной методике 13 больных, протрузии имплантата не наблюдалось. Однако, частота сером была несколько выше, чем в группе пациенток, у которых не использовался деэпидермизированный кожный лоскут.

Но, при этом, надо принять во внимание, что в развитии сером статистически значимым фактором является индекс массы тела, а большинство пациенток в исследуемой группе было «повышенного питания». У одной пациентки возникло инфекционное осложнение, которое закончилось некрозом кожного лоскута, и, как следствие, удалением импланта, несмотря на использование после операции с профилактической, а, в дальнейшем, и с лечебной целью, антибиотиков широкого спектра действия. Данное осложнение мы объяснили нарушением трофики деэпидермизированного лоскута в результате несоблюдения пропорций при перемещении кожных лоскутов – основание – длина: 1–3.

Заключение. Данную методику можно рекомендовать при первичной одномоментной реконструкции молочной железы с использованием имплантатов пациенткам, у которых опухоль узел расположена в нижнелатеральном квадранте, в непосредственной близости от кожи.

BRCA-мутации у больных с клиническими признаками наследственного рака молочной железы в Южном Федеральном Округе

Пржедецкий Ю. В., Водолажский Д. И., Шатова Ю. С., Комова Е. А., Двадненко К. В.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. Ежегодно в мире рак молочной железы (РМЖ) диагностируется у 1 млн. 400 тыс. женщин. Наследственные формы рака молочной железы клинически характеризуются ранним возрастом возникновения и составляют 5–10% всех случаев заболевания. Терминальные мутации в генах BRCA1 (локализован в 1 полосе 2 региона длинного плеча 17 хромосомы) и BRCA2 (локализован в позиции 12.3 длинного плеча 13 хромосомы) представляют собой наиболее изученные и часто встречающиеся генетические изменения, повышающие риск развития РМЖ и рака яичников (РЯ).

Первые данные о причастности генов BRCA 1 и BRCA2 к возникновению РМЖ и РЯ были получены на пациентках, проживающих в Европе и Северной Америке. Оказалось, что спектр мутаций в этих генах исключительно широк. Также следует отметить, что спектр наследственных мутаций в генах BRCA1/2 специфичен для разных стран и этнических групп.

Важно заметить, что в различных этнических популяциях преобладают BRCA 1/2 мутации разного спектра. Наиболее распространенной мутацией в гене BRCA1 в странах Восточной Европы, включая и Россию, является мутация 5382 insC в 20 экзоне.

Частота этой мутации, по данным разных авторов колеблется в генетически отягощенных семьях от 10 до 63%. Влияние генетической предрасположенности к РМЖ у женщин в Южном Федеральном Округе изучено недостаточно. При этом необходимо отметить, что ЮФО в совокупности с Северным Кавказом представляет собой уникальный регион с оседлым проживанием различных этносов.

В связи с этим данное исследование может служить моделью для изучения мутаций в генах BRCA1/2, что крайне важно для дальнейшего расширения представлений об этиологии и факторах риска развития рака молочной железы. На практике эти особенности необходимо учитывать, для прогнозирования стандартов лечения РМЖ и планирования скрининговых программ.

Целью настоящего исследования служило выявление частот встречаемости мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 в популяциях ЮФО при клинически наследственном раке молочной железы.

Материалы и методы. В исследование включены 67 пациенток с верифицированным РМЖ I–II стадии и клиническими признаками наследственного РМЖ, которые проходили стационарное лечение в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, постоянно проживающих в ЮФО. Медиана возраста на момент постановки диагноза пациенток, вошедших в исследование, составила 44 года.

Учитывались клинические признаки наследственного РМЖ, а именно: первично-множественный процесс (РМЖ и РЯ; синхронные и метахронные), семейный онкологический анамнез (РМЖ, РЯ), молодой возраст начала заболевания до 40–45 лет, негативный статус рецепторов ER, PR и HER2. Детекцию мутаций проводили с использованием набора «BRCA-скрин» («Интерлабсервис», Россия) методом пиросеквенирования на оборудовании PyroMark Q24 (Qiagen, Germany). Определялись следующие мутации в генах BRCA1/BRCA2. Исследуемые мутации: 185delAG (BRCA1), 300T>G (BRCA1), 2080delA (BRCA1), 4153delA (BRCA1), 5382insC (BRCA1), 6174delT (BRCA2).

Результаты. Было выявлено 7 образцов, несущих мутации, в том числе, 6 из них имели мутации 5382insC в 20 экзоне гена BRCA1 (9%) и 1 образец содержал мутацию T 300G в гене BRCA1 (1,5%). Мутации в гене BRCA2 в рамках данного исследования не обнаружены. Суммарная частота мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 составила 10,4% от общего числа обследованных пациенток. В контрольной выборке, состоящей из условно-здоровых пациенток, прошедших плановое обследование (День профилактики) на наличие мутаций в генах BRCA1/BRCA2 и состоящей из 108 человек, был обнаружен только 1 случай мутации 5382insC.

Все остальные пациентки (107 человек) имели Wild Type генов BRCA1/BRCA2. Частота встречаемости мутаций в генах BRCA1/BRCA2 в общей популяции пациенток, не имеющих на момент обследования признаков рака молочной железы и/или рака яичников составила 0,93%. При обследовании 64 пациенток, пришедших в поликлинику РНИОИ, но не имевших манифестированного РМЖ или РЯ, однако имевших отягощенный онкологический анамнез среди ближайших

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

родственников, в трех случаях была обнаружена мутация 5382insC. Остальные пациентки (61) имели WT генов BRCA1/BRCA2. В данной подгруппе частота обнаружения МТ генов BRCA1/BRCA2 составила 4,7%.

Заключение. Таким образом, в группе пациенток с клиническими признаками наследственного РМЖ наблюдалась повышенная более чем в 11,5 раза частота мутаций в генах BRCA1/BRCA2 по сравнению с группой пациенток без клинических признаков наследственного РМЖ (т.е. в среднем по популяции). Группа пациенток с отягощенным онкологическим анамнезом среди ближайших кровных родственников, но без признаков клинически наследственного РМЖ или РЯ имела более чем в 5 раз высокую частоту проявляемости мутаций в генах BRCA1/BRCA2 по сравнению с пациентками без отягощенного онкологического анамнеза и без признаков клинически наследственного РМЖ или РЯ.

Одной из наиболее часто встречающихся мутаций при клинически наследственном РМЖ у жителей славянских этносов ЮФО, является мутация 5382insC в гене BRCA1, в то время как мутация Т 300G в гене BRCA1 обнаружена у пациентки армянской национальности. Проведенное нами исследование демонстрирует совпадение как качества детектируемых мажорных мутаций в популяциях Юга России и Северного Кавказа (5382insC), так и некоторые особенности, присущие отдельным этносам и требующим дальнейшего изучения (мутация Т 300G в гене BRCA1 у женщины армянской национальности).

Связь молекулярных подтипов рака молочной железы с функционированием протеасомной системы

Колегова Е. С., Кондакова И. В., Шашова Е. Е.

Место работы: Томский НИИ онкологии

e-mail: elenakolegowa@mail.ru

Цель. Оценить функционирование протеасомной системы при различных молекулярных подтипах рака молочной железы (РМЖ).

Материал и методы. В исследование вошли 82 пациентки (Т 1–3N0–2M0), возраст 28–69 лет, не получавшие НАХТ. В группу больных люминальным А РМЖ вошло 25 человек, люминальным В – 33, Her2-позитивным – 7 и трипл-негативным – 17. Молекулярный тип опухоли определяли иммуногистохимическим и FISH методами по экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона, Her2/neu и маркера пролиферации Ki67.

Химотрипсинподобную (ХТП), каспазаподобную (КАС) активность протеасом оценивали флюориметрическим методом по гидролизу специфических флуорогенных олигопептидов. Оценка экспрессии субъединиц протеасом ($\alpha 1\alpha 2\alpha 3\alpha 5\alpha 6\alpha 7$, LMP2, LMP7, PA28 β , Rpt6) проводилась методом Вестерн-блоттинг. Методом логистической регрессии оценивали взаимное влияние экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона, Her2/neu, маркера пролиферации Ki-67 и показателей функциональной активности протеасом.

Результаты. При оценке особенностей функционирования протеасомной системы при различных молекулярных подтипах РМЖ было показано, что люминальный А рак характеризуется повышенной КАС активностью протеасом в опухолевой ткани по сравнению с неизменной ($p < 0,05$). При люминальном В РМЖ наблюдалось увеличение ХТП и КАС

активности в 6 и 4,9 раз соответственно по сравнению с неизменной тканью ($p < 0,05$).

При люминальных раках также отмечалось увеличение содержания регуляторных субъединиц (PA28 β в 1,6 раза для люминального А и Rpt6 в 2 раза для люминального В) и снижение экспрессии иммунных субъединиц протеасом (LMP7 на 20% при люминальном А и LMP2 на 44% при люминальном В) по сравнению с неизменной тканью ($p < 0,05$). Для трижды негативных опухолей наблюдалось увеличение ХТП и КАС активностей в 4 и 7,8 раза соответственно в опухоли по сравнению с неизменной тканью ($p < 0,05$).

Для HER-2 позитивных опухолей активность и субъединичный состав протеасом значимо не отличался от неизменной ткани. Методом логистической регрессии показано, что экспрессия рецепторов прогестерона вносит значимый вклад в изменение ХТП активности протеасом ($\chi^2 = 11,051$, $p = 0,011$), а маркером пролиферативной активности клеток Ki67 играет важную роль в изменении содержания субъединиц $\alpha 1\alpha 2\alpha 3\alpha 5\alpha 6\alpha 7$, LMP7 и Rpt6 ($\chi^2 = 12,040$, $p = 0,034$, $\chi^2 = 15,605$, $p = 0,004$ и $\chi^2 = 13,643$, $p = 0,034$ соответственно).

Заключение. Непредсказуемость биологического поведения опухоли даже среди больных с одинаковой распространенностью процесса и внутри одного молекулярного подтипа во многом обусловлена вовлечением в канцерогенез различных механизмов. При РМЖ большую роль в канцерогенезе отводят избыточной эстрогеновой стимуляции, нарушениям на уровне регуляции рецепторов, компонентов сигнальных путей, факторов транскрипции, а также генетическим нарушениям.

Одним из основных путей регуляции экспрессии биологически важных молекул является протеолиз, опосредуемый убиквитин-протеасомной системой. Полученные результаты выявляют новые возможные регуляторные механизмы, включающиеся при различных молекулярных подтипах РМЖ.

Работа протеасомной системы тесно взаимосвязана с изменением экспрессии молекул, определяющих молекулярный подтип РМЖ, которые, вероятно, оказывают большое влияние на протеасомную систему. Результаты исследования могут быть использованы для поиска новых молекулярных маркеров прогноза течения, а также новых мишеней терапевтического воздействия РМЖ. Показано, что функционирование протеасомной системы в опухоли уникально для каждого молекулярного подтипа рака молочной железы.

BRCA-мутации у больных с клиническими признаками наследственного рака молочной железы в Южном Федеральном Округе

Водолажский Д. И., Шатова Ю. С., Комова Е. А., Двадненко К. В.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Ежегодно в мире рак молочной железы (РМЖ) диагностируется у 1 млн. 400 тыс. женщин. Наследственные формы рака молочной железы клинически характеризуются ранним возрастом возникновения и составляют 5–10% всех случаев заболевания. Герминальные мутации в генах BRCA1 (локализован в 1 полосе 2 региона длинного плеча 17 хромосомы)

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

и BRCA2 (локализован в позиции 12.3 длинного плеча 13 хромосомы) представляют собой наиболее изученные и часто встречающиеся генетические изменения, повышающие риск развития РМЖ и рака яичников (РЯ).

Первые данные о причастности генов BRCA 1 и BRCA2 к возникновению РМЖ и РЯ были получены на пациентках, проживающих в Европе и Северной Америке. Оказалось, что спектр мутаций в этих генах исключительно широк. Также следует отметить, что спектр наследственных мутаций в генах BRCA1/2 специфичен для разных стран и этнических групп. Важно заметить, что в различных этнических популяциях преобладают BRCA 1/2 мутации разного спектра.

Наиболее распространенной мутацией в гене BRCA1 в странах Восточной Европы, включая и Россию, является мутация 5382 insC в 20 экзоне. Частота этой мутации, по данным разных авторов колеблется в генетически отягощенных семьях от 10 до 63%. Влияние генетической предрасположенности к РМЖ у женщин в Южном Федеральном Округе изучено недостаточно.

При этом необходимо отметить, что ЮФО в совокупности с Северным Кавказом представляет собой уникальный регион с оседлым проживанием различных этносов. В связи с этим данное исследование может служить моделью для изучения мутаций в генах BRCA1/2, что крайне важно для дальнейшего расширения представлений об этиологии и факторах риска развития рака молочной железы. На практике эти особенности необходимо учитывать, для прогнозирования стандартов лечения РМЖ и планирования скрининговых программ.

Целью настоящего исследования служило выявление частот встречаемости мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 в популяциях ЮФО при клинически наследственном раке молочной железы. В исследование включены 67 пациенток с верифицированным РМЖ I–II стадии и клиническими признаками наследственного РМЖ, которые проходили стационарное лечение в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава Российской Федерации, постоянно проживающих в ЮФО. Медиана возраста на момент постановки диагноза пациенток, вошедших в исследование, составила 44 года.

Учитывались клинические признаки наследственного РМЖ, а именно: первично-множественный процесс (РМЖ и РЯ; синхронные и метасинхронные), семейный онкологический анамнез (РМЖ, РЯ), молодой возраст начала заболевания до 40–45 лет, негативный статус рецепторов ER, PR и HER2. Детекцию мутаций проводили с использованием набора «BRCA-скрин» («Интерлабсервис», Россия) методом пиросеквенирования на оборудовании PyroMark Q24 (Qiagen, Germany). Определялись следующие мутации в генах BRCA1/BRCA2. Исследуемые мутации: 185delAG (BRCA1), 300T>G (BRCA1), 2080delA (BRCA1), 4153delA (BRCA1), 5382insC (BRCA1), 6174delT (BRCA2).

Было выявлено 7 образцов, несущих мутации, в том числе, 6 из них имели мутации 5382insC в 20 экзоне гена BRCA1 (9%) и 1 образец содержал мутацию T 300G в гене BRCA1 (1,5%). Мутации в гене BRCA2 в рамках данного исследования не обнаружены. Суммарная частота мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 составила 10,4% от общего числа обследованных пациенток. В контрольной выборке, состоящей из условно-здоровых пациенток, прошедших плановое обследование (День профилактики) на наличие мутаций в генах BRCA1/BRCA2 и состоящей из 108 человек, был обнаружен только 1 случай мутации 5382insC.

Все остальные пациентки (107 человек) имели Wild Type генов BRCA1/BRCA2. Частота встречаемости мутаций в генах BRCA1/BRCA2 в общей популяции пациенток, не имеющих на момент обследования признаков рака молочной железы и/или рака яичников составила 0,93%. При обследовании 64 пациенток, пришедших в поликлинику РНИОИ, но не имевших манифестированного РМЖ или РЯ, однако имевших отягощенный онкологический анамнез среди ближайших родственников, в трех случаях была обнаружена мутация 5382insC. Остальные пациентки (61) имели WT генов BRCA1/BRCA2. В данной подгруппе частота обнаружения МТ генов BRCA1/BRCA2 составила 4,7%.

Таким образом, в группе пациенток с клиническими признаками наследственного РМЖ наблюдалась повышенная более чем в 11,5 раза частота мутаций в генах BRCA1/BRCA2 по сравнению с группой пациенток без клинических признаков наследственного РМЖ (т.е. в среднем по популяции). Группа пациенток с отягощенным онкологическим анамнезом среди ближайших кровных родственников, но без признаков клинически наследственного РМЖ или РЯ имела более чем в 5 раз высокую частоту проявляемости мутаций в генах BRCA1/BRCA2 по сравнению с пациентками без отягощенного онкологического анамнеза и без признаков клинически наследственного РМЖ или РЯ.

Молекулярные подтипы рака молочной железы у мужчин

Николаев К. С., Иванов В. Г., Жильцова Е. К., Иванова О. А., Белоусова Т. А., Семглазов В. Ф.,

Место работы: ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

e-mail: doctorivanov@msn.com

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) у мужчин является редким заболеванием и составляет не более 0,1% от всех опухолевых заболеваний у мужчин. (Аксель С. М., 2006; Мерабишвили В. М., 2011). Поэтому тактические вопросы лечения, диагностики и послеоперационного ведения основаны в большей степени на данных о РМЖ у женщин. Редкость данного заболевания лежит и в основе малочисленных работ посвященных биологическим подтипам РМЖ у мужчин.

В литературе нами найдено не большое число исследований, обобщающих данные о молекулярных подтипах РМЖ у мужчин, хотя, как известно, именно эти знания и являются в настоящее время основой для назначения лекарственного лечения в послеоперационном периоде. Таким образом, остается актуальным дальнейшее изучение особенностей прогноза и чувствительности к отдельным видам системного лечения различных биологических подтипов РМЖ у мужчин, что позволит индивидуализировать системное лечение данного заболевания.

Цель. Проанализировать распределение биологических подтипов РМЖ у мужчин, дать оценку влияния выбора метода лечения в зависимости от биологических подтипов опухоли. Оценить 5-летнюю общую и безрецидивную выживаемость в зависимости от биологических подтипов опухоли у мужчин.

Материалы и методы. В исследование включено 108 больных РМЖ, пролеченных в ФГБУ НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова и других стационарах города за период с 2000 по 2014 гг. Средний возраст больных на момент установления диагноза составил 62 года (min – 24, max – 89 лет). Более 50%

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

больных были старше 50 лет и находились в интервале от 54 до 71 года.

Распределение больных по стадиям был следующим: рак *in situ* 3 (2,7%), I ст. – 9 (8,3%), II ст. – 43 (39,8%), III ст. – 47 (43,5%), и, немногочисленная группа с запущенной формой опухоли IV ст. 6 (5,5%) больных. Наибольшее число составили инвазивные протоковые формы опухоли (84%). По данным окончательного гистологического заключения более половины больных (59%) имели метастазы в подмышечные лимфоузлы.

При определении биологических подтипов РМЖ у мужчин были использованы результаты иммуногистохимического исследования операционного материала с определением рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PR) и HER2-neu статуса, определялся уровень индекса пролиферации Ki67, у всех больных оценивалась степень гистологической злокачественности (G) как альтернативная оценка опухолевой пролиферации.

Биологические подтипы РМЖ распределялись в зависимости от вышеперечисленных данных в соответствии с существующей классификацией, а именно: Люминальный А, Люминальный В (HER2 – отрицательный), Люминальный В (HER2 – положительный), Трижды-негативный РМЖ. Максимальный удельный вес составили опухоли люминального А подтипа 54%. Больные с люминальным В (HER2 – отрицательный) – 32,1%. Минимальное число опухолей соответствовали Люминальному В (HER2 – положительный) РМЖ – 4,6% и трижды негативному РМЖ – 9,2%.

Таким образом общая картина практически соответствовала распределению больных РМЖ у женщин менопаузального возраста.

Ввиду малого числа случаев люминального В HER2 – положительного и трижды-негативного РМЖ, данные подтипы вместе с люминальным В (HER – отрицательным) подтипом были объединены в одну группу и названы «Нелюминальным А» подтипом.

Все больные получали адъювантное лечение (химиогормонотерапия) в зависимости от стадии заболевания, биологического подтипа опухоли, возраста и сопутствующих заболеваний. По показаниям назначалась лучевая терапия на переднюю грудную клетку и пути регионарного лимфооттока. Анализ показателей 5-летней общей и безрецидивной выживаемости определялся с помощью критериев Wilkoxon, Cox и log-rank теста. Статистически достоверным считалось значение $p < 0.05$.

Результаты. Показатели 5-летней общей выживаемости больных люминальным-А РМЖ составили 88% в группе, получавшей адъювантную гормонотерапию и 69% в группе больных, получавших сначала адъювантную химиотерапию, а затем эндокринотерапию. Различия в выживаемости получились статистически недостоверны, $p = 0.071$, однако была отмечена тенденция к лучшим показателям в группе больных, получавших только гормонотерапию.

В качестве основного препарата назначался Тамоксифен в стандартной дозировке 20 мг. в сутки. Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости были также схожи и составили (88% в группе, получавшей только эндокринотерапию и 84% в группе, получавшей химиогормонотерапию $p > 0.05$). Анализ 5-летней общей выживаемости в объединенной группе больных или Нелюминального – А РМЖ указывало на то, что комбинированное адъювантное лечение способствовало лучшим показателям и составила 87% против 32% у тех, кто получал

только эндокринотерапию ($p < 0.05$). В качестве адъювантной химиотерапии применялись схемы (FAC, FEC или препараты таксанового ряда).

Однако безрецидивная выживаемость не показала статистически значимых результатов в двух, сравниваемых группах и составила 75% в группе, получавшей адъювантную эндокринотерапию и 39% в группе, получавшей, комбинированное лечение. ($p > 0.05$). Аналогичные данные были получены в этой группе (Нелюминальный А) РМЖ после стратификации в зависимости от пораженных л.у., однако данные были статистически достоверными 87% и 19% соответственно ($p = 0.04$).

Заключение. Анализ распределения РМЖ у мужчин по биологическим подтипам опухоли показал, что в возрастной группе старше 50 лет преобладают опухоли с Люминальным А подтипом. В этой группе больных проведение адъювантной гормонотерапии сравнимо с комбинированным химиогормональным лечением. Добавление к лечению химиотерапии не дает дополнительного эффекта после оценки 5-летней общей и безрецидивной выживаемости.

В тоже время в группе больных Нелюминальным А подтипом, в которую мы объединили опухоли с Люминальным В и трижды негативные опухоли, проведение химиотерапии в адъювантном режиме является определяющей и влияет на показатели 5-летней выживаемости в лучшую сторону. Анализ продолжительности жизни в группе больных Нелюминальным А РМЖ с метастазами в подмышечных лимфатических узлах показал, что наиболее благоприятный прогноз отмечался у больных, получавших в адъювантном режиме химиогормонотерапию, по сравнению с больными, получавшими только химиотерапию или только эндокринотерапию.

Антиметаболическая терапия в комплексном лечении рака молочной железы

Седаков И. Е., Бутенко Е. В., Шатова О. П., Зинкович И. И., Хлопушин Е. Ю., Кульков С. К.

Место работы: Республиканский онкологический центр им. проф. Г.В. Бондаря, г. Донецк.

e-mail: dimaco1986@gmail.com

Целью данного исследования является доказательство того, что противоопухолевые эффекты метформина могут быть опосредованы через гиперпродукцию лактата, активацию АДА, подавление аденозинергической иммуносупрессии. В эксперименте *in vitro* доказана способность метформина повышать чувствительность раковых клеток и особенно стволовых к цитостатикам. Кроме того, высказано предположение, что метформин способен инициировать репрограммирование злокачественно трансформированных клеток. В наших предыдущих исследованиях доказана способность лактата дозозависимо активировать аденозиндеаминазу (АДА).

Материал и методы исследования. Использовали операционные биоптаты опухолевых тканей 30 больных раком молочной железы (РМЖ) T2–4N1M0, получавших в плане комплексного лечения циклы неоадъювантной внутриартериальной полихимиотерапии по схеме ASCMF. Из них 15 пациентов дополнительно получали метформин в дозе 1000 мг в день.

Результаты исследования и их обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют, что прием метформина сказывается на работе ключевого фермента распада аденозина – АДА. Его активность возрастает до $12,1 \pm 2,49$ нмоль/мин*мг белка,

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

статистически значимо ($p=0,003$) превышая соответствующий показатель у пациентов контрольной группы – $4,77 \pm 0,943$ нмоль/мин*мг белка. Было установлено, что концентрация субстрата аденозиндезаминазной реакции – аденозина в опухолевой ткани у больных с РМЖ, которые принимали метформин, была $0,226 \pm 0,148$ мкмоль/г ткани, а у больных без приема метформина – $0,186 \pm 0,056$ мкмоль/г ткани.

При оценке концентрации одного из продуктов аденозиндезаминазной реакции – инозина мы установили, что на фоне приема метформина уровень инозина составляет $0,121 \pm 0,041$ мкмоль/г ткани, что статистически значимо выше по сравнению с таким же показателем в контрольной группе $0,042 \pm 0,015$ мкмоль/г ткани ($p=0,25$). Дальнейший продукт распада пуринов – гипоксантин показал максимальный рост концентрации на фоне терапии метформином.

Так в группе принимавшей метформин его концентрация составляла $2,45 \pm 0,428$ мкмоль/г ткани (без учета плотности ткани 2450 ± 428 мкмоль/л), тогда как в группе контроля – всего лишь $0,711 \pm 0,269$ мкмоль/г ткани (без учета плотности ткани 711 ± 269 мкмоль/л) ($p=0,0003$). Оба эти значения значительно превышают концентрацию гипоксантина в нормальных тканях – 172 мкмоль/л, что может свидетельствовать об ингибировании метформином ксантиноксидазы – фермента дальнейшего распада гипоксантина. Однако такое предположение требует дополнительных исследований.

Заключение. Прием метформина на фоне циклов неoadъювантной полихимиотерапии увеличивает активность АДА в опухолевых тканях, что может иметь позитивный эффект в ускользании от парадокса Хеллстрёма (аденозинергической иммуносупрессии). Установлено резкое увеличение аденозина в опухолевой ткани.

Уровень инозина в опухолевой ткани был ниже, тогда, как на фоне проводимой терапии он повышался. Интересно, что содержание гипоксантина значительно увеличилось на фоне приема метформина. Можно предположить иные источники гипоксантина или ингибирование ксантиноксидазы метформином.

Непосредственные результаты реконструктивных операций у больных раком молочной железы

Козлов С.В., Савельев В.Н., Каганов О.И., Кочетков Р.И., Борисов А.П., Кокшарова О.Г., Катюшин А.А., Ткачев М.В., Ламонов М.С., Буканова М.С., Ткачева В.М.

Место работы: Самарский областной клинический онкологический диспансер

e-mail: m9277477577@mail.ru

Актуальность. Реконструктивные операции на молочной железе в настоящее время является общепризнанным стандартом лечения рака молочной железы (РМЖ), а также доказано, что это и лучший способ комплексной реабилитации. Желание восстановить молочную железу в один этап для большинства больных РМЖ является основным моментом, влияющим на выбор способа реконструкции.

Цель работы. сравнить результаты одноэтапных (ОРО) и двухэтапных (ДРО) реконструктивных операции на молочной железе с использованием имплантов.

Материалы и методы. Нами проанализированы результаты реконструктивных операции у больных I–III стадией раком молочной железы. В основную группу вошли больные ($n=33$), которым проводилось ОРО. Показаниями к ОРО были желание больных восстановить молочную железу в один этап, птоз

1–2 степени, объем железы не более 400 мл и отсутствие показаний для послеоперационного облучения. Больным контрольной группы ($n=28$) выполнялась ДРО.

Показаниями к ДРО стали невозможность получить эстетический результат за один этап, высокая вероятность или обязательное адъювантное лечение. Во время первого этапа, по возможности, сохранялась ареола и сосок, при этом избытки кожного лоскута не иссекались, а дезэпидермизировались с целью увеличения количества мягких тканей над экспандером. Экспандер раскачивался в первые два месяца (во время первых трех курсов химиотерапии) на 20–25% больше номинала и оставался без изменения на этапе облучения. Второй этап выполнялся через 4–6 месяцев после завершения комплексного лечения.

На втором этапе, при необходимости, производили капсулэктомию и ремоделирование субмаммарной складки. У 10 больных выполнена корригирующая операция на противоположной молочной железе: мастопексия ($n=7$), масторедукция ($n=9$), эднотезирование ($n=6$). Сравнение результатов основной и контрольной групп проводилось по времени операции, степени выраженности капсулярной контрактуры и эстетическому результату.

Полученные результаты. Продолжительность операции в основной группы было на 60–90 минут больше чем в контрольной. Послеоперационные осложнения возникли у четырех [больных основной группы (двум из них проведены повторные операции по удалению гематом, а у двух отмечен частичный некроз кожного лоскута.) В контрольной группе у двух больных отмечен разрыв экспандера и рожистое воспаление. Протрузия протеза на втором этапе возникла у одной больной через 1,5 месяца после операции.

Формирование фиброзной контрактуры 3–4 степени (постоянная болезненность, деформация протеза) зарегистрировано у 5 пациенток основной группы и только у одной из контрольной. Эстетические результаты через 6–12 месяцев после завершения второго этапа оценены как отличные ($n=8$), хорошие ($n=13$), удовлетворительные ($n=7$) у больных контрольной группы, в основной группе отличные ($n=3$), хорошие ($n=10$), удовлетворительные ($n=20$).

Выводы. Таким образом, способ ДРО может быть рекомендован больным РМЖ как основной в случае предполагаемого специального лечения или для достижения более значимого эстетического результата.

Остеопротегерин и его роль в оценке течения рака молочной железы

Маслюкова Е.А., Корытова Л.И., Заброда С.И., Пожарисский К.М., Раскин Г.А., Корытов О.В., Обухов Е.М.

Место работы: ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, г. Санкт-Петербург

e-mail: dr.maslyukova@mail.ru

Актуальность. Несмотря на значительный прогресс в исследовании РМЖ, разделения на молекулярные подтипы, механизмы образования метастазов у больных РМЖ остаются до конца не изученными, особенно, при наличии благоприятного прогноза. Изучение новых информативных прогностических маркеров по-новому представляет современные проблемы патологии РМЖ.

Цель исследования: Изучить уровень экспрессии OPG в клетках опухоли у больных раком молочной железы.

Материалы и методы. В исследование были включены 83 пациентки с местнораспространенным РМЖ (T2–4N0–3M0),

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

получавшие лечение с 2003 по 2010 гг.. Критериями включения являлись гистологически подтвержденный диагноз инвазивного рака молочной железы. С целью изучения уровня OPG (остеопротегерина) проводилось иммуногистохимическое исследование, которое выполнялось по стандартному протоколу на срезах биопсийного материала.

Антитело к OPG использовалось фирмы GeneTex, было кроличьим поликлональным, разведение 1:1000, инкубация 30 минут. Система визуализации использовалась фирмы DAKO, Real EnVision, anti-rabbit. Оценка иммуногистохимического окрашивания осуществлялась путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток.

Результаты. Экспрессия OPG более чем в 50% клеток рассценивалась как высокая, менее 50% – низкая. По уровню экспрессии больные были разделены на две группы: первая – с высоким OPG (high), вторая группа – с низкой экспрессией OPG (low). В группу OPG(high) вошли 47, в группу OPG (low) – 36 пациенток. Не было отмечено каких – либо достоверных различий в отношении наличия или отсутствия пораженных регионарных лимфатических узлов, категории Т и индекса Ki-67 в отношении экспрессии OPG. В группе с положительным эстроген прогестероновыми рецепторами OPG(high) встречались достоверно чаще, чем в группе с отрицательными рецепторами, $p < 0,05$.

Анализ зависимости времени до возникновения метастазов от уровня экспрессии OPG показал достоверное уменьшение времени до прогрессирования заболевания при низкой экспрессии OPG(low) у больных РМЖ по сравнению с группой больных, с высокой экспрессией OPG(high) (рис.7). Cox's F-Test ($p = 0,03913$). Аналогичная закономерность наблюдалась при оценке общей выживаемости. Выживаемость больных, у которых опухолевые клетки имели высокую экспрессию OPG > 50%, была статистически выше, чем в группе больных, где выявлялась низкая экспрессия OPG < 50%. Достоверность различий между кривыми выживаемости подтверждалась тестами Gehan's Wilcoxon, $p = 0,01057$ и Cox's F-Test, $p = 0,00849$.

Выводы. Определение уровня OPG в клетках опухоли дает дополнительную возможность прогнозировать течение РМЖ. Установлено различие в выживаемости и времени до прогрессирования (возникновения метастазов) у пациентов с низкой экспрессией OPG по сравнению с аналогичными показателями у больных с высокой экспрессией OPG.

RANK – маркер (рецептор активации нуклеарного фактора- κ B) в прогнозе течения рака молочной железы

Заброда С.И., Маслюкова Е.А., Корытова Л.И., Раскин Г.А., Пожарисский К.М., Корытов О.В., Обухов Е.М.

Место работы: ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, г. Санкт-Петербург
e-mail: dr.maslyukova@mail.ru

Актуальность. RANK- это трансмембранный белок, экспрессия которого первоначально была обнаружена только в дендритных клетках и зрелых остеокластах. Вскоре в работе Fata J.E. и др. появилось сообщение о том, что экспрессия RANK – маркера была обнаружена в здоровых тканях молочной железы, а так же в клетках опухолей рака предстательной железы и рака молочной железы. Данные исследования подтверждали важность роли RANK белка в развитии остеолитических метас-

тазов в кости. На примере семейного рака Пэджета была показана значимость RANK/RANKL системы, и как следствие роль RANK-маркера в пролиферирующих клетках опухоли.

Цель исследования. Выявить зависимости между выраженностью уровня экспрессии RANK в опухолевых клетках, временем до прогрессирования (возникновения метастазов), выживаемостью, клинико-морфологическими особенностями опухоли.

Материалы и методы. В исследование были включены 83 пациентки с местнораспространенным РМЖ (T2–4N0–3M0), получавших лечение с 2003 по 2010 гг.. Критериями включения являлись гистологически подтвержденный диагноз инвазивного рака молочной железы, возраст старше 18 лет, ECOG 0 или 1. Для анализа использовали иммуногистохимическое окрашивание первичной опухоли, полученное в результате биопсии. Клинический материал изучался ретроспективно. Оценка уровня RANK осуществлялась путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток. Экспрессия более чем в 5% клеток рассценивалась как высокая, менее 5% – низкая. По уровню экспрессии больные были разделены на две группы: первая – с высоким RANK (high), вторая группа – с низкой экспрессией RANK (low). В группу RANK (high) вошли 39, в группу RANK (low) – 44 пациенток.

Результаты. Уровень экспрессии RANK в опухолевых клетках колебался от 0% до 90%. Среднее значение уровня экспрессии RANK в опухолевых клетках РМЖ составило 18,7%, медиана – 5%. Минимальное значение – 0%, максимальное – 90%. Больные были разделены на две группы по уровню экспрессии: первая – с высоким уровнем RANK (high) (больше медианы), вторая – с низкой экспрессией RANK (low) (меньше медианы). При анализе клинико-патологических характеристик больных РМЖ с учетом экспрессии RANK, не было отмечено каких – либо статистически значимых различий в отношении наличия или отсутствия пораженных регионарных лимфатических узлов, категории Т и индекса Ki-67.

Анализ зависимости времени до возникновения метастазов от экспрессии RANK показал статистически достоверное уменьшение времени до прогрессирования заболевания при низкой экспрессии RANK(low) у больных РМЖ по сравнению с группой больных, с высокой экспрессией RANK(high). Cox's F-Test, $p = 0,00015$, Gehan's Wilcoxon Test, $p = 0,00410$. Выживаемость больных, у которых опухолевые клетки имели высокую экспрессию RANK, больше 5%, была статистически достоверно выше, чем в группе больных, где выявлялась низкая экспрессия RANK – меньше 5%. Достоверность различий между кривыми выживаемости подтверждалась Gehan's Wilcoxon, $p = 0,01057$ и Cox's F-Test, $p = 0,00006$.

Выводы. Определение уровня RANK в клетках опухоли рака молочной железы дает дополнительную возможность прогнозировать течение РМЖ (выживаемость и время до прогрессирования).

Экспрессия маркера стволовых опухолевых клеток альдегиддегидрогеназы первого типа (ALDH1) у больных раком молочной железы (РМЖ)

Маслюкова Е.А., Заброда С.И., Корытова Л.И., Пожарисский К.М., Раскин Г.А., Корытов О.В., Обухов Е.М.
Место работы: ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, г. Санкт-Петербург
e-mail: dr.maslyukova@mail.ru

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Актуальность. Несмотря на прогресс в лечении РМЖ с помощью комбинированного подхода с учетом морфологических данных, отдаленные метастазы могут развиваться у 30–90% пациентов с первичным РМЖ, даже на ранних его стадиях. По одной из версий, которые могли бы, по крайней мере, частично объяснить неэффективность лечения является теория раковых стволовых клеток (cancer stem cells (CSC)). Это теория предполагает, что рак может возникать и развиваться из небольшой части стволовых клеток, которые способны вызывать рост опухоли, а также влиять на резистентность к химио- и лучевой терапии

Цель. Исследование экспрессии ALDH1 в опухолевых клетках у больных РМЖ.

Материалы и методы. В исследование были включены 83 пациентки с местнораспространенным РМЖ (T1–4N0–3M0), получавших лечение с 2005 по 2009 гг. Критериями включения являлись гистологически подтвержденный диагноз инвазивного РМЖ, возраст старше 18 лет, ECOG 0 или 1. Для анализа использовали иммуногистохимическое окрашивание биопсийного материала первичной опухоли. Иммуногистохимическое исследование выполнялось по стандартному протоколу. Антитело к ALDH-1 использовалось фирмы Epitomics, было кроличьим моноклональным (клон EP1932Y), разведение 1:200.

Оценка иммуногистохимического окрашивания осуществлялась путем подсчета числа позитивных клеток относительно общего числа опухолевых клеток. Количество окрашенных клеток больше 1% относилось к группе с высоким содержанием стволовых опухолевых клеток (группа 1), меньше 1% – с низким содержанием (группа 2). В группу 1 вошли 16, в группу 2 – 67 пациенток. По течению заболевания пациенток разделили на группу благоприятного прогноза – 20 больных, которые не имели метастазов в течение 5 лет после хирургического лечения, и 63 – группа не благоприятного прогноза, у которых метастазы возникли в течение 5 лет после установления диагноза.

Результаты. Большинство больных в обеих группах (80,7%) имели гормоноположительные опухоли и относились к типу люминальный А и люминальный В. Индекс Ki-67 в группе благоприятного прогноза колебался в интервале от 2% до 50%, среднее значение составило 13,6%. В группе больных неблагоприятного прогноза минимальное значение Ki-67 составило – 2%, максимальное – 80%, среднее – 20,4%.

В группе больных, где метастазы не возникли в течение 5 лет низкие значения пролиферативного индекса (Ki-67 <14) встречались достоверно чаще, чем в группе плохого прогноза ($p=0,0123$). В группе больных с благоприятным прогнозом (метастазы не возникли в течение 5 лет) стволовые опухолевые клетки не были выявлены ни в одном случае. В группе пациенток с неблагоприятным прогнозом (у всех в течение 5 лет появились отдаленные метастазы) высокое содержание ALDH1 установлено в 16 образцах опухолевой ткани, взятой при биопсии.

Это свидетельствует о прогностической значимости данного маркера, $p=0,0121$. При анализе клинико-патологических характеристик больных РМЖ с учетом экспрессии стволовых раковых клеток ALDH1(+) и ALDH(–) не было отмечено каких-либо статистически значимых различий в отношении наличия или отсутствия пораженных регионарных лимфатических узлов, категории Т, субтипа РМЖ и индекса Ki-67. Однако, выявлена следующая закономерность: высоко и умеренно

дифференцированные опухоли чаще встречались в группе ALDH1(–), тогда как низкодифференцированные в группе ALDH1(+), $p=0,006$.

Анализ зависимости времени до возникновения метастазов от экспрессии ALDH1 показал статистически достоверное уменьшение времени до прогрессирования заболевания при экспрессии ALDH1(+) у больных РМЖ по сравнению с группой больных, у которых стволовые опухолевые клетки не определялись ALDH1(–), $p<0,05$. Выживаемость больных, у которых опухолевые клетки не имели экспрессии ALDH1, была статистически выше, чем в группе больных, где выявлялся селективный маркер стволовых опухолевых клеток – ALDH1(+). Достоверность различий между кривыми выживаемости подтверждалась Gehan's Wilcoxon и Cox's F-Test.

Выводы. Определение ALDH1 в опухолевых клетках несет дополнительный прогностический потенциал для предсказания течения заболевания у больных РМЖ. Особенный интерес представляет группа люминального рака, когда, несмотря на казалось бы, благоприятное течение болезни, часть пациентов прогрессирует. Наличие дополнительного прогностического маркера, такого как ALDH1 позволит определить когорту больных для более тщательного мониторинга.

Настоящее исследование подчеркивает важность статуса ALDH1 в исследовании стволовых раковых клеток и определяет ALDH1 как потенциальный прогностический маркер, и возможно, в будущем терапевтическая мишень для лечения больных РМЖ.

Роль белка промежуточных филаментов виментина в развитии регионарных метастазов при инвазивном дольковом раке молочной железы

Засадкевич Ю. М., Бриллиант А. А., Сазонов С. В.

Место работы: ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий

e-mail: yulkat@bk.ru

Введение. Экспрессия белка промежуточных филаментов виментина, характерного для клеток мезенхимального происхождения, в клетках молочной железы связана с некоторыми особенностями эмбрионального развития молочной железы и клеточной дифференцировкой. В ткани молочной железы экспрессия виментина обнаруживается в миоэпителиальных клетках. Появление экспрессии данного белка опухолевыми клетками является признаком реализации эпителиально-мезенхимального перехода, отражающего финальный шаг опухолевой дедифференцировки, который ассоциируется с высоким инвазивным потенциалом опухолевых клеток.

Цель исследования. Изучить экспрессию виментина в группах с различными стадиями регионарного метастазирования (N) инвазивного долькового рака молочной железы (РМЖ).

Материалы и методы. В исследование вошло 208 случаев инвазивного долькового рака молочной железы. Из них, 127 случаев (61%) относились к стадии N0, 56 случаев (27%) – к стадии N1, 25 случаев (12%) – к стадии N2. К стадии N3 не относилось ни одного случая. Исследование проводилось иммуногистохимическим методом. Для определения экспрессии виментина использовались мышинные моноклональные анти-свиные антитела Vimentin (Clone V9, DAKO, Дания). Экспрессия виментина оценивалась как положительная при позитивном цитоплазматическом окрашивании >1% опухо-

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

левых клеток.

Результаты. Была изучена экспрессия виментина при инвазивном дольковом раке молочной железы. Были получены следующие результаты: в общей группе исследования определялась экспрессия виментина в 146 (70%) случаях, в группе инвазивного долькового рака молочной железы со стадией регионарного метастазирования N0 – в 89 (70%) случаях, со стадией N1 – в 55 (68%) случаях, со стадией N2 – в 21 (84%) случае.

При сравнении с общей группой исследования, не выявлено достоверных различий в экспрессии виментина в группе исследования со стадией регионарного метастазирования N0 и N1 ($p > 0,05$). Экспрессия виментина в группе со стадией регионарного метастазирования N2 выявлялась достоверно чаще, чем во всех остальных группах исследования – на 14% ($p < 0,05$) по сравнению с общей группой исследования, а также с группой случаев со стадией регионарного метастазирования N0, и на 16% ($p < 0,05$) по сравнению с группой случаев со стадией регионарного метастазирования N1.

Заключение. Виментин экспрессируется в цитоплазме большинства клеток инвазивного долькового рака молочной железы. Данная особенность является проявлением эпителиально-мезенхимального перехода, для которого характерно приобретение опухолевыми клетками свойств, характерных для клеток мезенхимального происхождения, обеспечивающих им способность к подвижности и миграции. Увеличение экспрессии виментина связано с развитием процесса метастазирования.

Клинико-биологические факторы прогноза метакронного рака молочной железы

Чулкова С. В.^{1,2}, Лепкова Н. В.², Егорова А. В.²

Место работы: 1. НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН, г. Москва; 2. ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. Н. Пирогова Минздрава РФ, г. Москва
e-mail: chulkova@mail.ru

Цель. Изучение клинических (возраст, менструальный статус, степень распространенности процесса по системе TNM, морфологическая форма опухоли) и биологических (содержание рецепторов эстрогена и прогестерона, ploидность и пролиферативная активность клеток опухоли) факторов прогноза метакронного рака молочной железы.

Материалы и методы. В исследование включено 210 больных метакронным раком молочной железы. При первичной опухоли 22,9% больных были с I стадией, 46,7% со II стадией, с III–IV – 19,4%, при второй опухоли – 31,9%, 45,7%, 15, 8% соответственно. Средний возраст больных метакронным раком составил 47 лет при выявлении первичной опухоли и 52 года – при второй опухоли. Преобладали инфильтративные формы рака. У 63,8% больных репродуктивная функция была сохранена. При первичном раке хирургическое лечение получили 18,1% больных, комбинированное – 27,6%, комплексное – 53,3%; при метакронном – 10,5%, 40% и 46,6% соответственно. В 62% случаев в первые 5 лет после лечения первичной опухоли диагностирована вторая опухоль. У 37 больных методом лазерной ДНК-проточной цитофлуориметрии исследованы ploидность клеток опухоли и пролиферативная активность клеток опухоли. Учет реакции проводили на лазерном проточном цитофлуориметре EPICS-XL (Coulter, США).

Результаты и обсуждение. При изучении продолжительности жизни больных достоверно установлено, что время

возникновения второй опухоли влияет на выживаемость. Выживаемость в группе больных, у которых метакронная опухоль возникла в первые 3 года после лечения, составила 58%, а коэффициент летальности – 3,03, тогда как в группе, у которой вторая опухоль выявлена после 5 лет – 100% и 0,33 соответственно. Больные моложе 50 лет, а также женщины, у которых первичный и метакронный рак возникли на фоне сохранной менструальной функцией живут достоверно дольше. У большей части таких больных опухоль рецептороположительна, а выживаемость составляет 91,7%.

У больных со стадиями T 1–2N1–3–T 1–2N0 отмечен высокий процент выживаемости по сравнению с другими и это, безусловно связано с тем, что метакронный рак чаще возникает по прошествии 5 лет после лечения. При оценке поражения лимфатического аппарата выявлено, что и при первичном раке, и при метакронной опухоли общая 5-летняя выживаемость при наличии 1 метастатического лимфоузла составляет 89,5%, тогда как при поражении более 3 лимфоузлов всего 68,5%. Вместе с тем количество пораженных лимфоузлов влияет и на сроки возникновения второй опухоли.

Изучение ploидности опухоли показало, что у 91,9% больных преобладают анеуплоидные опухоли, причем они ассоциированы с ранними стадиями процесса, наблюдаются в основном у женщин моложе 50 лет и в 35,2% случаев сочетаются с потерей хромосомного материала. Опухоли с диплоидным набором хромосом встречались в возрасте старше 50 лет и при местнораспространенных стадиях. Почти в 3% случаев выявлены тетраплоидные опухоли. При определении степени злокачественности установлено, что при метакронном раке подавляющий процент опухолей имеет II степень злокачественности.

Заключение. Таким образом, в ходе исследования установлены важные прогностические признаки: время возникновения метакронной опухоли, возраст больных, овариально-менструальная функция, уровень рецепторов стероидных гормонов, стадия процесса, количество метастазов в регионарных лимфатических узлах.

По результатам многофакторного анализа (рассчитаны весовые коэффициенты информативности по Шеннону) группу риска развития метакронного рака составляют женщины молодого возраста и с сохранной менструальной функцией, на ранних стадиях, опухоль у которых является анеуплоидной с потерей хромосомного материала.

Почему неоадьювантная химиотерапия, за исключением случаев полной регрессии, не улучшает выживаемость больных раком молочной железы

Литвяков Н. В., Ибрагимова М. К., Цыганов М. М., Ивановская П. В., Слонимская Е. М., Чердынцева Н. В.

Место работы: Томский НИИ онкологии, г. Томск, Россия; Лаборатория трансляционной молекулярной и клеточной биомедицины Национального исследовательского Томского государственного университета, г. Томск, Россия
e-mail: nvlitv72@yandex.ru

Введение. В настоящее время известно, что при достижении частичной регрессии или стабилизации неоадьювантная химиотерапия (НАХТ) не оказывает влияние на выживаемость больных раком молочной железы (РМЖ). Только при достижении полной морфологической регрессии в процессе нео-

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

адьювантной химиотерапии (НАХТ) увеличивается выживаемость больных.

Однако частота полных морфологических регрессий при разных молекулярных подтипах составляет от 10–15% (при люминальном В) до 40–50% (при трижды негативном РМЖ), т.е. у большинства пациентов НАХТ не оказывает существенного влияния на выживаемость, даже несмотря на значительное уменьшение объема первичной опухоли. Причины отсутствия влияния эффекта НАХТ на выживаемость больных РМЖ во многом не известны. Мы попытались выявить эти причины, рассматривая клональную эволюцию опухоли молочной железы в процессе НАХТ, которая, по сути, является индивидуальным генетическим результатом взаимодействия химиотерапевтических препаратов и опухоли и может определять ее дальнейшие потенции к прогрессированию.

Цель работы: На основе исследования клональной эволюции опухоли молочной железы в процессе НАХТ выявить, почему она не улучшает безрецидивную выживаемость больных, за исключением случаев полной морфологической регрессии.

Материалы и методы. В исследование включены 68 больных раком молочной железы с НАХТ (по схемам FAC или CAH), у которых была достигнута частичная регрессия, стабилизация или прогрессирование (по критериям ВОЗ). У всех пациентов ДНК выделяли из биопсийных образцов опухолевой ткани до лечения и у 26 больных также выделяли ДНК и из операционных образцов после НАХТ. ДНК исследовали при помощи SNP-array микроматричного анализа на чипах высокой плотности фирмы Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array и оценивали вариации числа копий (CNV) во всех опухолевых клонах (генетический ландшафт).

Результаты. Установлено, что у 6/26 (23%) обследованных больных под действием НАХТ происходит образование новых опухолевых клонов, несущих амплификации. Практически у всех этих пациентов стабилизация или частичная регрессия при проведении НАХТ была сопряжена с гематогенным метастазированием и у 5/6 (83%) пациентов развивались гематогенные метастазы, в то время как у всех остальных пациентов, у которых на фоне частичной регрессии, стабилизации или прогрессирования при проведении НАХТ не происходило образование клонов с амплификацией и не было метастазов в 5-ти летнем периоде наблюдения ($p = 0,00001$ Log-rank test). Новые амплификационные клоны появлялись в следующих хромосомных локусах: 7q, 8q, 13q, 9p, 10p, 16p, 19p, 18chr. Если в остаточной резидуальной опухоли оставались после НАХТ или образовывались de novo в процессе лечения любые два из этих амплификационных клонов, то в 100% (5 из 5) случаев отмечается гематогенное метастазирование. Можно полагать, что опухолевые клоны, несущие амплификации в 7q, 8q, 13q, 9p, 10p, 16p, 19p, 18chr локусах являются потенциальными метастатическими клонами («семенами»), которые, при наличии «благоприятных» условий в органах-мишенях («почве»), с очень высокой вероятностью формируют очаги вторичного опухолевого роста.

Эти клоны могут существовать или не существовать в опухоли до лечения, или они могут появляться при клональной эволюции в процессе НАХТ. Если у пациентов в опухоли до лечения есть два и более таких метастатических клонов, то НАХТ, как правило (в 92%, 12/13 случаев), приводит к элиминации этих метастатических клонов, и метастазирование отсутствует. Если у пациентов в опухоли до лечения нет метастатических клонов или имеется только один из них, то в процессе

НАХТ могут образоваться новые клоны и опухоль будет метастазировать. Это наблюдалось в 31% случаев (4/13) ($p=0,002$, критерий Фишера). Таким образом, в одних случаях (при наличии потенциальных метастатических клонов до лечения) предоперационная химиотерапия улучшает выживаемость, в других случаях (при отсутствии потенциальных метастатических клонов до лечения) стимулирует метастазирование и в сумме мы получаем отсутствие влияния НАХТ на выживаемость.

С этих позиций мы сопоставили наличие/отсутствие указанных клонов в опухоли до лечения у 68 больных РМЖ с гематогенным метастазированием. Оказалось, что у 14/17 (82%) больных с метастазами, в опухоли до лечения не было обозначенных выше потенциальных метастатических клонов или был только один из них. По-видимому, НАХТ способствовала их появлению, как это было показано выше. В группе без метастазов только у 22/51 (43%) пациентов в опухоли до лечения не было потенциальных метастатических клонов ($p=0,005$ по критерию Фишера), а у 29/51 (57%) больных было два и более метастатических клонов и НАХТ способствовала их элиминации. Таким образом, согласно нашим данным назначение НАХТ больным РМЖ без наличия в опухоли двух и более потенциальных метастатических клонов увеличивает риск метастазирования с 9% (3/32) до 39% (14/36), $p=0,005$ по критерию Фишера.

Вывод. На основании представленных данных можно сказать, что основной целью для проведения НАХТ при раке молочной железы является элиминация существующих в опухоли до лечения потенциальных метастатических клонов и показанием к назначению НАХТ может быть наличие в опухоли таких метастатических клонов, в то время как отсутствие метастатических клонов является противопоказанием к назначению НАХТ, которая может способствовать их появлению. Возможным вариантом таких потенциальных метастатических клонов могут быть выявленные нами амплификации локусов 7q, 8q, 13q, 9p, 10p, 16p, 19p, 18chr. Необходима валидация полученных результатов в проспективных исследованиях. Работа поддержана грантом РФФИ 15–04–03091 и выполнена в рамках программы повышения конкурентоспособности Национального исследовательского Томского государственного университета.

Иммуносигнатура – инновационная методика профилактики и ранней диагностики рака молочной железы

Лазарев А. Ф.^{1,2,3}, Шойхет Я. Н.^{1,3}, Джонстон С. А.⁵, Шаповал А. И.⁴, Петрова В. Д.^{1,2}

Место работы: 1. Алтайский филиал ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», г. Барнаул, РФ; 2. КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», г. Барнаул, РФ; 3. ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, РФ

e-mail: aoc@ab.ru

Актуальность ранней диагностики злокачественных новообразований (ЗН) не вызывает сомнений, так как показатели онкологической заболеваемости и смертности занимают лидирующие позиции как в Российской Федерации, так и во всём мире. Следует признать, что современные инструментальные методы ранней диагностики рака молочной железы

ОПУХОЛИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

(РМЖ) являются дорогостоящими, инвазивными и трудно-выполнимыми для массового скрининга. Сывороточные биомаркеры: СА15.3, СА27–29 и РЭА, не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью для ранней диагностики РМЖ и используются, в основном, для мониторинга заболевания и терапии (Fuzery AK, 2013).

Целью нашего исследования явилось изучение возможности использования метода иммуносигнатуры для профилактики и ранней диагностики рака.

Материалы и методы. В 2014 году был организован Российско-Американский противораковый центр (РАПРЦ) на базе Алтайского государственного университета и Алтайского краевого онкологического диспансера совместно с Алтайским филиалом РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (Российская Федерация) и Центром Инновационной медицины Университета штата Аризона (США). Целью деятельности РАПРЦ является организация и проведение фундаментальных и прикладных научных исследований в области биологии и медицины, а более конкретно – поиск методики для ранней диагностики рака. Основными направлениями деятельности РАПРЦ является разработка и валидация инновационной технологий ранней диагностики онкологических заболеваний с использованием иммуносигнатур.

В отличие от общепринятой редукционной парадигмы определения единичных биомаркеров, иммуносигнатура опирается на мультиплексную систему, в которой тестируются антитела, вырабатываемые в ответ на молекулярные изменения, связанные с развитием опухолей. Технология основана на микрочипе, на поверхность которого нанесены пептиды, со случайными аминокислотными последовательностями. Для теста требуется менее 1 мкл плазмы крови. Разведенная плазма (1:500) распределяется по всей поверхности пептидного микрочипа, антитела в плазме избирательно связываются с отдельными пептидами, образуя портрет иммунной активности – иммуносигнатуры. Специфические иммуносигнатуры характеризуют развитие определенного типа опухолей. Технические диагностика с помощью иммуносигнатур отличается простотой в выполнении на первом этапе: в день исследования пациенту можно принимать пищу, у него, независимо от времени суток, берут капельку крови (для исследования достаточно менее 1 мкл плазмы крови), которую наносят на микрочип.

Собраны углубленные сведения, включающие данные фенотипа и генотипа (углубленное анкетирование), и забрана кровь на иммуносигнатуру у пациентов, имеющих ранние (I и II стадии) рака молочной железы – 99 пациенток; у пациентов, свободных от рака (группа доноров, контрольная группа) – 86 пациентов. Протестированы 10 пациенток со злокачественными новообразованиями (ЗНО) молочной железы и 15 женщин, свободных от рака. Средний возраст пациенток РМЖ составил 58 ± 18 лет; средний возраст пациенток группы контроля – 46 ± 6 лет.

Результаты. При углубленном анализе иммуносигнатур обнаружены 141 информативных пептида, определяющую достоверную разницу между здоровыми пациентами и больными РМЖ ($p < 0.001$). Индивидуальные иммуносигнатуры были представлены тепловыми цветными картами, где красный цвет показывал повышенную реактивность сывороточных антител с указанными пептидами и был обнаружен у пациенток РМЖ, а зелёный – сниженную реактивность, соответственно, отсутствие ЗНО.

В процессе исследования были выявлены три нехарактерных случая: два – среди больных РМЖ и один – в группе доноров. У 2-х пациенток РМЖ результаты иммуносигнатуры соответствовали иммуносигнатуре здоровых доноров, и, наоборот, результаты иммуносигнатуры здоровой пациентки были идентичны результатам онкологических больных. При углубленном анализе был определён иммунофенотип у женщин, страдающих РМЖ: у одной он соответствовал тройному негативному РМЖ, а у второй – люминальному типу В. У здоровой женщины (без каких-либо клинических проявлений), напротив, при углублённом анализе была установлена повышенная степень онкологического риска – 60% и выявлены факторы, которые объяснили данные изменения.

Выводы. 1. Обнаружены 141 информативных пептида, определяющую достоверную разницу между здоровыми пациентами и больными РМЖ ($p < 0.001$); 2. Это позволяет получать индивидуальные иммунные портреты – иммуносигнатуры, характерные для пациенток с предопухолевыми заболеваниями, больных РМЖ и здоровых женщин, свободных от рака; 3. Метод иммуносигнатуры безвреден для пациенток и чрезвычайно прост в исполнении; 4. Динамический анализ индивидуальных иммуносигнатур может быть использован для прогнозирования течения ЗНО.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о высокой достоверности использования инновационного метода иммуносигнатуры в целях профилактики, ранней диагностики и прогнозирования течения рака молочной железы.

ПЭТ/КТ-18-ФДГ ПРИ РАДИОИОД-НЕГАТИВНОМ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОМ РАКЕ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гелиашвили Т. М., Васильева Е. Б., Важенен А. В., Афанасьева Н. Г.

Место работы: ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер» г. Челябинск
e-mail: geliashvili_tata@mail.ru

Актуальность. Известно, что до 10% дифференцированного рака щитовидной железы (ДРЩЖ) в процессе дедифференцировки теряют способность накапливать радиоактивный йод, что делает невозможным использование йода-131 в диагностических и лечебных целях. Поэтому проблеме обнаружения рецидивов и метастазов ДРЩЖ у пациентов после первичной и аблативной терапии придается большое значение. На сегодняшний день, применение ПЭТ/КТ с 18-ФДГ в динамическом наблюдении больных с ДРЩЖ является рутинным и порой просто незаменимым обследованием.

И хотя в литературе все чаще и чаще появляются новые показания к применению ПЭТ/КТ при ДРЩЖ, основным показанием остается подозрение на рецидив заболевания при повышенном уровне тиреоглобулина и негативном радиойодскане. Целью данной работы явилась оценка диагностической точности ПЭТ/КТ и влияния на тактику ведения больных с ДРЩЖ при повышенном уровне тиреоглобулина и радиойоднегативном скане.

Материалы и методы. Ретроспективно проведен анализ 36 ПЭТ/КТ-18-ФДГ исследований, проведенные 28 больным с

ОПУХОЛИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

ДРЦЖ в ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер» за период с 2011 г по июнь 2015 г.

В анализ вошли пациенты с подозрением на рецидивирование и/или метастазирование заболевания при наличии повышенного уровня тиреоглобулина и негативного радиоiodскана во время послеоперационной радиоiodабляции или после завершения комбинированного метода лечения при динамическом наблюдении. ПЭТ-исследование проводилось на сканерах «Biograph-40» и «Biograph-64», позволяющим детектировать очаг патологического накопления размером менее 1 см. Во всех 36 случаях скинтиграфия всего тела с I-131 (СВТ) являлась посттерапевтической и проводилась спустя 96 часов после радиоiodтерапии на планарной томографической цифровой гамма-камере Nucline X-Ring (Mediso Ltd., Венгрия).

В 15 случаях (41,7%) ПЭТ/КТ проведено на фоне эндогенной стимуляции ТТГ (после 4-х недельной отмены L-тироксина). В 21 случае (58,3%) ПЭТ/КТ проведено на фоне супрессии ТТГ, то есть на фоне приема L-тироксина.

Результаты. Положительный результат получен по 18 (50%) ПЭТ/КТ исследованиям (только локо-регионарный рецидив – 12 (66,7%), только отдаленные метастазы – 2 (11,1%), сочетание локо-регионарного рецидива с отдаленными метастазами – 4 (22,2%)). Отрицательный результат получен по 18 (50%) ПЭТ/КТ исследованиям (без патологии – 7 (38,9%), сомнительные результаты – 11 (61,1%)). Локо-регионарный рецидив суммарно диагностирован по 16 (44,4%) ПЭТ/КТ.

Выполнено 10 оперативных вмешательств по поводу локо-регионарных рецидивов. Диагноз рецидива постоперационно гистологически верифицирован в 9 случаях (90%). В 1 (10%) случае зарегистрирован «ложно-положительный» результат ПЭТ/КТ. В группе больных, у которых ПЭТ/КТ проведено на фоне ТТГ-стимуляции, положительные результаты выявлены в 12 случаях из 21 (57,1%). В группе же больных, которым ПЭТ/КТ проводилось на фоне ТТГ-супрессии, положительные результаты получены в 6 случаях из 15 (40%).

Средний уровень тиреоглобулина в группе больных с положительным результатом ПЭТ/КТ составил 99 нг/мл, а в группе больных с негативным ПЭТ/КТ – 34 нг/мл.

Выводы. Таким образом, ПЭТ/КТ в группе больных с повышенным уровнем тиреоглобулина и радиоiod-негативном скане позволил выявить 16 локо-регионарных рецидивов, в 10 случаях из которых (27,8%) поменял тактику лечения пациента. Еще в 8 случаях (22,2%) результат ПЭТ/КТ поменял тактику динамического наблюдения больного.

Мультидисциплинарный подход в комбинированном лечении плоскоклеточного рака головы и шеи

Шарабура Т. М.^{1,2}, Важенин А. В.^{1,2}, Гузь А. О.¹, Захаров А. С.¹, Ложков А. А.¹, Збицкая М. А.¹

Место работы: 1. ГБУЗ Челябинский областной клинический онкологический диспансер, г. Челябинск; 2. Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск
e-mail: tatyana1612@yandex.ru

Цель исследования заключалась в изучении результатов комбинированного лечения больных с плоскоклеточным раком головы и шеи для оценки факторов, определяющих эффективность на этапах многокомпонентного лечения.

Материалы и методы. В Челябинском областном клиническом онкологическом диспансере с 2011 по 2014 гг. ком-

бинированное лечение с послеоперационной лучевой или химиолучевой терапией проведено 115 пациентам с плоскоклеточным раком гортани и слизистой оболочки ротовой полости III–IV стадии (Т 3–4N0–2M0). Мужчин было 97, женщин – 18, в возрасте от 25 до 75 лет, средний возраст составил 56,7±8,4 г.

Кроме удаления первичной опухоли, операция включала селективную регионарную лимфодиссекцию 2–3 уровней и 1, 4 и 5 уровней при наличии показаний. Среднее количество исследованных лимфатических узлов составило 11,0±7,5. Морфологическое исследование включало оценку параметров опухоли, состояние края резекции, количества удаленных и пораженных лимфатических узлов, наличие периневральной (ПНИ), лимфоваскулярной инвазии (ЛВИ) и экстракапсулярного распространения (ЭКР).

Всем больным проводилась адъювантная лучевая терапия на зоны регионарного метастазирования (лимфатические узлы шеи I–IV уровней) с суммарной дозой 46–50 Гр и на ложе опухоли с суммарной дозой 46–60 Гр ± цисплатин 100 мг/м² 1 раз в 3 недели.

Результаты. Лучевой мукозит 2–3 степени тяжести по шкале EORTC/RTOG отмечен у всех больных в процессе АЛТ. На фоне терапии сопровождения и при обеспечении зондового питания у большинства больных проведено непрерывное облучение.

Отдаленные результаты лечения изучены у 74 больных. Средние сроки наблюдения составили 17 месяцев. Рецидивы диагностированы у 24 (32%) больных. Рецидивы в регионарных лимфатических узлах и ложе опухоли развились в 42% и 42%, в 16% случаев регионарные рецидивы сочетались с локальными. 20 из 24 рецидивов диагностированы в течение года, в том числе 11 – в первые 6 месяцев после операции. 1-летняя общая выживаемость составила 79%, медиана общей выживаемости (ОВ) – 16 месяцев.

У 40 больных с N0 рецидивы возникли в 11 (27,5%) случаях, а из 34 больных с N1–2 – в 13 (38,2%) случаях. Среди больных, имевших ПНИ, ЛВИ и/или ЭКР частота рецидивов достигла 60%, среди имевших плоскоклеточный рак низкой степени дифференцировки – 67%, медиана ОВ в этих подгруппах составила 11 и 12 месяцев, соответственно. Изучено влияние параметров лечения на его результаты: Продолжительность интервала от операции до начала АЛТ (О-АЛТ) колебалась от 16 до 97 дней, в среднем составила 43,5±14,7 дней.

Не получено достоверных различий в ОВ в зависимости от длительности интервала О-АЛТ, но среди тех, кто начал облучение в период до 30 дней рецидивы развились в 53% случаев и лишь у 27% больных, получивших облучение спустя 31 и более дней после операции. Рецидивы диагностированы у 31% больных, получивших суммарную дозу 46–50 Гр и у 39% больных, получивших более 50 Гр на ложе удаленной опухоли, но рецидивы развивались в среднем на 3 месяца позднее при большем значении суммарной дозы.

Медиана ОВ в этих подгруппах составила 13 и 17 месяцев, соответственно (p=0.8). Из 37 больных, имевших высокий риск рецидива, химиотерапия в процессе АЛТ была проведена лишь 14 из-за риска осложнений на фоне дефицита веса, нарушения питания и сопутствующих заболеваний. Среди тех, кому была проведена ХТ одновременно с АЛТ, частота рецидивов составила 29% и 42% – среди имевших показания, но не получивших ХТ, достоверных различий в ОВ не отмечено.

Заключение. Условием достижения максимального эффекта комбинированного лечения больных с плоскоклеточным раком

ОПУХОЛИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

гортани и слизистой оболочки ротовой полости является персонализированный выбор схемы и параметров адьювантной терапии с учетом всех факторов риска, при соблюдении общих принципов на всех этапах многокомпонентного лечения.

Двухлетний опыт использования методики TLM (Transoral Laser Microsurgery) в клинике опухолей головы и шеи: успехи и проблемы

Новожилова Е. Н., Федотов А. П., Чумаков И. Ф., Хотеев А. Ж., Фомина О. В., Праведников П. А., Соколов С. Н., Соколов С. А., Нефедова О. В.

Место работы: Московская городская онкологическая больница № 62 (гл. врач – проф. А. Н. Махсон)

e-mail: E-Novozhilova@yandex.ru

Лазерная хирургия начала широко применяться в оториноларингологии в семидесятых годах 20 века. С тех пор появилось большое количество лазеров (Nd: YAG, Argon, CO₂ и др), работающих с различной мощностью, а так же значительный прогресс произошел и в развитии эндоскопической техники. В настоящее время становится очевидным, что перспективы нашей специальности связаны с развитием новой техники (TLM-translaryngeal microsurgery и TOR-Surgery (transoral robotic surgery)). Основная задача – удалить опухоль максимально абластично, но в то же время и сохранить функции гортани.

С 2013 г в нашей клинике используется роботизированный лазерный комплекс Lumenis со сканирующим микроманипулятором AcuBlade. Эта уникальная установка позволяет, по заранее заданной программе, регулировать площадь и глубину разреза, делать разрезы сложной формы, в зависимости от анатомии поверхности, осуществлять точный контроль абляции и гемостаза.

Основные преимущества TLM (по сравнению с открытыми операциями): 1. В большинстве случаев не требуется трахеотомия. 2. Большой может говорить и глотать после операции. 3. Значительно меньшая травматичность и болезненность. 4. Сокращение сроков госпитализации.

Следует отметить, что эндоларингеальная хирургия отличается целым рядом особенностей: сложностью топографии (операции проводятся в зоне перекреста дыхательных и пищеводных путей), сложностью автоматизма защитных механизмов гортани и голосообразования. При TLM операции проводятся в условиях общей анестезии. Использование методики TLM требует безупречного взаимопонимания и слаженности в работе хирурга и анестезиолога.

Основной проблемой анестезиологического обеспечения при этих вмешательствах является создание оптимальных условий для работы хирурга в зоне верхних дыхательных путей и сохранение физиологических параметров вентиляции. При эндоларингеальных операциях операционное поле и зона деятельности анестезиолога совпадают. Для ИВЛ используется оротрахеальная интубация.

Трахеотомия выполняется лишь при выраженном стенозе дыхательных путей. Особенно опасна ситуация, когда возникают трудности и при вентиляции, и при интубации. Эта ситуация может быть драматической, так как очень быстро нарастает гипоксия. По данным ASA (Американской ассоциации анестезиологов) при TLM трудности для анестезиолога возникают в 12–28% случаев, по сравнению с 0,4% с обычными опера-

циями. Это обусловлено тем, что зона манипуляций анестезиолога совпадает с областью операции и патологическим процессом в гортани (или глотке).

Затруднения возникали в случаях: 1. нарушение подвижности надгортанника из-за близости опухоли (иногда врач вообще не может увидеть анатомических ориентиров) 2. обструкция дыхательных путей может мешать продвижению интубационной трубки 3. экзофитная опухоль может кровоточить во время интубации, что вызовет обструкцию дыхательных путей и проблемы вентиляции 4. при нарушении анатомии и состоянии тканей после проведенной ранее операции и лучевой терапии 5. ХОБЛ, ожирение, анкилоз позвоночника, тугоподвижность н/челюсти.

В работе нами широко используется шкала Cormack для оценки сложности вентиляции. Это позволяет заранее запланировать проведение наркоза и операции, избежать ряда проблем. Для ИВЛ мы применяем трубки малого диаметра, но неизбежно трубка суживает операционное поле и делает недоступными зоны задней комиссуры, черпалов.

В ноябре 2014 г в работу введена установка TwinStream (Carl Reiner), адаптированная к роботизированному лазерному комплексу. Эта система позволяет проводить операции трансоральным доступом, без интубации трахеи. В ней сочетаются 2 режима вентиляции (нормочастотный и высокочастотный), регулируется давление потока, осуществляется мониторинг фракций O₂, CO₂ и давления в дыхательных путях.

Установка обеспечивает для хирурга неограниченную визуализацию операционного поля и позволяет безопасно работать с лазерным комплексом, поскольку аппарат имеет специальный режим «Лазер», при включении которого подается газовая смесь содержащая 40% кислорода.

Реализация проведения струйной ИВЛ в высокочастотном (HFJet Ventilation) или нормальночастотном (NFJet Ventilation) режиме, а также их комбинации в режиме сочетанной высокочастотной поточной вентиляции – Method of Super-imposed High Frequency Jet Ventilation® (SHFJet Ventilation, HF+NF) дает возможность полностью контролировать, как поступление кислорода, так и элиминацию углекислого газа и обеспечивает возможность безопасного применения лазера, отсутствие риска баротравмы.

С использованием роботизированного лазера Lumenis нами прооперировано 99 больных с новообразованиями гортани и глотки: доброкачественные опухоли гортани – 31, папилломатоз – 22, дисплазия эпителия II–III ст на фоне хронического ларингита – 23, ларингоцеле – 2, Киста гортани – 3, Солитарная плазмоцитома надгортанника – 1, Ca in situ гортани – 5, остаточные опухоли гортани после ЛТ – 6, доброкачественные опухоли глотки (кисты грушевидного синуса и боковой стенки глотки) – 3, удаление небных миндалин – 3.

3 пациента были оперированы по поводу с рубцовых стриктур среднего отдела гортани (1 пациентка – с синехией после химического ожога, и 2 больных после открытых резекций гортани, выполненных ранее). 2 больным была выполнена хордэктомия на фоне стеноза гортани (двусторонний паралич гортани после операции на щитовидной железе). Все больные на 2–3 сутки после операции были выписаны с хорошими функциональными и клиническими результатами.

У 6 больных раком гортани 3 ст (Т3N0M0) были удалены остаточные опухоли после химиолучевого лечения по радикальной программе (ДГТ с СОД 66–68 Гр). Сроки наблюдения за ними составили от 4 до 16 мес. У 1 из пациентов возник

ОПУХОЛИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

рецидив, и выполнена ларингэктомия. Привентивное наложение трахеостомы потребовалось у 4 больных, кровотечение во время операции – 3, подкожная эмфизема – 1, ожог дыхательных путей – 1. Повторные вмешательства (этапного характера) потребовались 4 больным.

Из технических сложностей во время операции следует отметить трудности доступа к анатомическим зонам – подкомиссуральному пространству, грушевидным синусам. Поэтому целесообразно иметь в операционной жесткую оптику 0,30, 70 градусов, фиброскоп и широкий перечень операционных ларингоскопов.

Выводы. Методика ТЛМ позволяет проводить лечение больных с различными заболеваниями гортани и глотки, снизить сроки нахождения пациентов в стационаре. Преимуществом ее является малая травматичность, низкий процент осложнений, прецизионность хирургической техники. При этом необходима большая слаженность в работе хирургической бригады и анестезиолога, что позволяет минимизировать процент осложнений.

Роль факторов неоплазии и неоплазии ангиогенеза в реализации эффекта при терапии цетуксимабом плоскоклеточного рака головы и шеи

Владимирова Л. Ю., Франциянц Е. М., Агиева А. А., Енгибарян М. А., Пустовая И. В., Черярина Н. Д., Погорелова Ю. А.
Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Изучить соотношение факторов неоплазии ангиогенеза в крови и ткани опухоли в зависимости от клинического эффекта применения цетуксимаба.

Материалы и методы. В исследование включали пациентов с первичным местнораспространенным верифицированным плоскоклеточным раком головы и шеи, Т3–4, N0–1, M0, ECOG ≤ 1, при нормальной функции печени, почек и костного мозга, отсутствие данных за отдаленные метастазы. В исследование были включены 27 пациентов (77,7% (21) мужчин и 22,3% (6) женщин, средний возраст 57,5 ± 1,7 лет. Цетуксимаб вводили в дозировке 400 мг/м² в 1 день и 250 мг/м² еженедельно в сочетании с химиотерапией: Цисплатин 100 мг/м² в 1 день, Фторурацил 1000 мг/м² 96-часовая непрерывная инфузия с 1–4 дни 21-дневного цикла. В крови, ткани опухоли, ее перифокальной зоне, полученной путем трепанбиопсии после химиотерапии цетуксимаба были исследованы EGF, EGFR, VEGFA, VEGFR1, VEGFD, TGF методом иммуноферментного анализа. В качестве контроля изучены кровь и ткань больных без лечения цетуксимабом.

Результаты. При достижении клинического эффекта у пациентов в ткани опухоли отмечалось снижение уровня EGFR на 40,8%, EGF-на 22,6%, VEGFR1- на 41,6%, TGF-на 28% по сравнению с контрольной (p < 0,05) и 4,6-кратное снижение VEGFA (p < 0,05). Изменения в EGF, EGFR, VEGFA, VEGFR1, TGF в тканях вокруг опухоли были похожи, но более выражены. В крови этих больных после лечения уровень EGFR увеличился в 1,7 раза, а TGF, напротив, снижился в 1,4 раза при неизменном уровне остальных показателей (p < 0,05).

При отсутствии клинического эффекта у пациентов в ткани опухоли отмечалось увеличение уровня EGF на 26,6%, VEGFR1 – на 44,2% и 4,5-кратное снижение VEGFD (p < 0,05).

Изменения уровня EGF, VEGFA, VEGFR1, TGF в тканях, окружающих опухоль, были разнонаправлены с показателями в опухоли и только EGFR и VEGFD изменялись в том же направлении. В крови этих больных уровень EGFR после лечения увеличился в 1,5 раза, уровень EGF, VEGFA, TGF, напротив, снижались в 3 раза, 1,5 раза и 2,1 раза соответственно. Содержание VEGFR1 и VEGFD не изменялось.

Заключение. Исследование факторов неоплазии и неоплазии ангиогенеза выявило дезрегуляцию сигнальной трансдукции на уровне тканей, окружающих злокачественную опухоль, что возможно является одной из причин, приводящих к неэффективности терапии цетуксимабом.

Рак органов полости рта и глотки в Ростовской области

Светицкий П. В., Нистратов Г. П., Зыкова Т. А., Новикова И. А., Златник Е. Ю., Енгибарян М. А.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Рак полости рта и глотки в структуре заболеваний опухолями головы и шеи Российской Федерации занимает второе место после рака гортани. В Ростовской области наблюдается рост данной патологии. Заболеваемость РПРиГ в 1970 г. составила 2,4 (на 100.000 нас.), в 1990 г. – 6,5, в 2015–7,07, что выдвинуло его на первое место среди опухолей головы и шеи. Несмотря на проводимое лечение 5-летняя выживаемость не превышает 40%. В этой связи, разработка и совершенствование современных методов диагностики и лечения данного заболевания является актуальной проблемой.

В настоящее время в комплекс общепринятых клинических и лабораторных методов исследования онкологических больных стали широко использовать современные Методы. молекулярно-биологические, микробиологические, иммунофенотипирование и т.д. Данные исследования позволяют выявить факторы определяющие течение и прогноз онкологического заболевания и в частности – орофарингеального рака. При этом определенная роль отводится состоянию микрососудистой системы опухоли и показателям вирусной инфекции.

Цель исследования. Оценить значения вирусов, цитокинов и состояние микрососудистой опухолевой инвазии на течение рака полости рта и глотки.

Материалы и методы. Объектом исследования были 48 больных с распространенным раком полости рта и глотки, которые были разделены на 3 группы по 16 человека. Первая группа имела регионарные метастазы, вторая – без метастазов, третья – с рецидивными опухолями, проходивших лечение в отделении опухолей головы и шеи ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ в 2008–2013 гг.

Мужчин было 40, женщин – 8. Возраст больных составлял 37–71 года. По распространенности процесса: с III стадией было – 30 (Т2N1M0–4, Т3N0M0–18, Т3N1M0–8), IV – 18 (Т3N2M0–4, Т4N0M0–8, Т4N1M0–6).

Материалом для исследования служили взятые интраоперационно образцы ткани опухоли и перитуморальной зоны, которые фиксировались в формалине и парафине. Забор вирусной ДНК проводили в ручном режиме методом сорбции на колонках с использованием набора реагентов. Изучалась

ОПУХОЛИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

ДНК вируса Эпштейн – Барра и вируса папилломы человека. Определяли локальные уровни некоторых интерлейкинов в фрагментах ткани опухоли и пограничной с ней, неизменной ткани. Рассчитывали удельное содержание цитокинов.

Иммуногистохимические исследования проводили на срезах с парафиновых блоков, предназначенных для стандартного морфологического исследования, которые депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. Оценку экспрессии маркеров изучали с применением светового микроскопа «Leica» (Германия).

Изучение ангиогенеза осуществляли окрашиванием микрососудов опухолей антителом CD34. Количество сосудов определяли в каждом поле зрения препарата.

Пролиферативная активность опухоли осуществлялась методом подсчета количества ki-67- положительных опухолевых клеток. Статистическая обработка осуществлялась программой Statistica 6,0.

Результаты исследования. Было установлено, что инфицированность ткани опухоли вирусами папилломы человека была выявлена в 20,8%. При этом низкий онкогенный риск составил 5,4%, а высокий 15,3%. Чаще других были выявлены 16 и 11 типы вирусов.

Установлена зависимость частоты метастазирования и рецидивирования опухоли от наличия группы вируса. Так, вирусы папилломы человека низкого и высокого онкогенного риска чаще были обнаружены у больных, не имеющих метастазы. Была выявлена определенная закономерность между распространенностью опухолевого процесса и частотой выявляемости вируса Эпштейн – Барра, которая была выявлена в 62,5%. У больных без регионарных метастазов выявлено более высокое содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8 ($p < 0,05$). У больных с регионарными метастазами наблюдалось более высокое содержание ИЛ-1β и ИЛ-8. При рецидивах подобная разница отмечена только по уровню ИЛ-6. Следует отметить, что при рецидивах в тканевых образцах перифокальной зоны и в опухоли утрачиваются различия по ИЛ-1β и ИЛ-8. Это можно расценивать о приближении иммунологических характеристик визуально немалигнизированной ткани к опухолевой и может косвенно свидетельствовать об утрате ею свойств, ограничивающих пролиферативный потенциал опухоли.

При оценке внутриопухолевой микрососудистой плотности выявлено в группе больных без метастазов преобладание мелких тонкостенных сосудов, тогда как у больных с метастазами и рецидивами отмечено наличие сосудов с утолщенной стенкой и более крупного диаметра. Среднее количество сосудов в 1 поле зрения: в группе без метастазов составило $6,4 \pm 0,7$; в группе с метастазами $8,8 \pm 0,9^*$; в группе с рецидивами $9,7 \pm 0,8^*$ (* – отличия показателей статистически достоверны по отношению к группе без метастазов ($P \leq 0,05$)).

Заключение. Инфицированность вирусами папилломы человека ткани опухоли у больных с раком органов полости можно рассматривать как благоприятный прогностический признак и малую вероятность развития метастазов. В то же время, инфицирование ткани опухоли вирусом Эпштейн-Барра следует рассматривать как на неблагоприятный прогностический признак.

Различия тканевого цитокинового состава у больных раком языка и полости рта без регионарных метастазов, с метастазами и при рецидивах статистически не значимы. В то же время, у всех больных выявлены различия тканевого цитокинового

состава между тканью опухоли и перитуморальной области с преобладанием содержания провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8 в опухолевой ткани. Преобладание сосудов крупного диаметра с утолщенной стенкой может расценивать как неблагоприятный прогностический признак появления или возможного развития метастазов и рецидивов.

Отдаленные результаты лечения пациентов с папиллярным раком щитовидной железы при использовании дооперационной молекулярно-генетической панели

Семенов Д.Ю.¹, Борискова М.Е.¹, Фарафонова У.В.¹, Колодкова Л.Е.², Зинкевич И.Т.², Кочнева О.Л.², Быков М.А.¹, Панкова П.А.¹, Волчков Г.В.¹, Смолина Е.Н.¹

Место работы: 1. Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования; 2 «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург

e-mail: boriskovam@gmail.com

Одной из актуальных проблем современной тиреодологии является улучшение результатов лечения больных с папиллярным раком щитовидной железы путем решения вопроса об адекватном объеме оперативного лечения и уменьшения количества рецидивов и связанных с этим повторных оперативных вмешательств. Не смотря на значительное количество исследований, посвященных дооперационным прогностическим критериям риска рецидива заболевания, данный вопрос требует дальнейших исследований.

В связи с этим основной целью нашей работы явился сравнительный анализ результатов лечения пациентов с папиллярным раком щитовидной железы, оперированных с использованием принятых стандартов, и с включением в дооперационный алгоритм молекулярно-прогностической панели.

Материалы и методы. В ходе выполнения нашего исследования проанализированы результаты лечения 91 пациента с папиллярным раком щитовидной железы, прооперированных на базе кафедры общей хирургии в период с 2008 по 2013 гг. На дооперационном этапе нами было выполнено молекулярно-генетическое исследование на наличие в материале пункционной биопсии мутации V600E гена BRAF и определение уровня экспрессии натрий-йодного симпортера (НИС) методом проточной цитофлюорометрии. Для выявления мутации T1799A (Val 600 Gln) в гене BRAF использовался метод аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией продуктов амплификации в полиакриламидном геле. Экспрессия NIS определялась методом проточной цитофлюорометрией на проточном цитометре Epics XL – MCL (Beckman Coulter) в материале ТАБ. Все пациенты были разделены на 2 группы: в первую группу вошли 48 пациентов, решение об объеме оперативного вмешательства которых принималось на основании принятых в России согласительных документов; во вторую группу вошли 43 пациента, при принятии решения об объеме оперативного вмешательства которых помимо общепризнанных факторов неблагоприятного прогноза, оценивались молекулярно-прогностические маркеры BRAF и НИС. При выявлении мутации гена BRAF и снижении уровня экспрессии менее 1% в материале ТАБ, больным второй группы

ОПУХОЛИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

выполнялась тиреоидэктомия с центральной лимфодиссекцией. Все пациенты были оперированы, медиана наблюдения за пациентами составила 60 месяцев. Окончательная верификация диагноза проводилась по данным гистологического исследования.

Результаты. Среди 91 пациента с установленным по данным гистологического исследования диагнозом – папиллярный рак ЩЖ BRAF-мутация была выявлена с частотой 51.6% (47 пациентов из 91). При наблюдении в срок до 60 месяцев частота рецидивирования BRAF положительных опухолей составила 41% (10 пациентов). Интересным является тот факт, что BRAF мутация в нашем проспективном исследовании не влияет на развитие рецидива заболевания ($p = 0.07$).

Однако при многомерном анализе и использовании критерия однородности кривых дожития Каплан-Майер выявлено, что BRAF статус опухоли влияет на развитие рецидива во взаимосвязи с объемом выполненного оперативного вмешательства. Так, были получены следующие результаты, при выполнении в случае BRAF позитивного статуса только тиреоидэктомии, рецидив заболевания развился в 42% случаев (у 3 пациентов из 7); при дополнении этого же объема центральной лимфодиссекцией количество рецидивов снижается до 6% (у 2 пациентов из 31) ($p = 0.002$).

В группе же BRAF отрицательных опухолей объем операции не влияет на риск развития рецидива. Т.е. во 2ой группе больных в связи с расширением объема хирургического лечения удалось снизить количество рецидивов в группе BRAF положительных опухолей с 42% до 6%.

При анализе зависимости положительного BRAF статуса опухоли и таких признаков агрессивности течения высокодифференцированного рака щитовидной железы, как мультицентричность, наличие метастазов в регионарные лимфатические узлы получены следующие данные. При наличии мутации гена BRAF достоверно чаще можно выявить наличие мультицентричности ($p = 0.0055$) и метастазы в локорегионарные лимфатические узлы ($p < 0.001$).

Статистически значимой корреляции между наличием мутации гена BRAF и уровнем экспрессии НИС в нашем исследовании не получено ($p = 0.6$). При использовании регрессионной модели Кокса выявлены ведущие факторы, влияющие на развитие рецидива заболевания. К ним относится общепризнанный критерий неблагоприятного прогноза – размер первичной опухоли (Т-стадия) ($p=0.017$), и уровень экспрессии НИС менее 1% ($p<0.0001$). При проспективном анализе влияния уровня экспрессии НИС на безрецидивную выживаемость в группе больных с уровнем экспрессии НИС более 1% рецидив заболевания развился лишь в 10% случаев, тогда как в группе больных с уровнем экспрессии НИС менее 1% частота рецидивов достигла 50%.

Заключение. Таким образом, в группу высокого риска должны дополнительно быть включены пациенты с положительным BRAF статусом опухоли и снижением уровня экспрессии НИС менее 1%. В случае BRAF положительной опухоли необходимо расширять показания к выполнению профилактической центральной лимфодиссекции.

Пути совершенствования диагностики первично-метастатического поражения лимфоузлов шеи

Куликов Е.П., Захаркина Т.В.

Место работы: Рязанский государственный медицинский университет, г. Рязань

e-mail: zakharkina-rzn@yandex.ru

Проблема диагностики первично – метастатического поражения лимфоузлов шеи, несмотря на достаточно высокий уровень развития современной диагностики, является актуальной и нерешенной на сегодняшний день. Показатели выживаемости при данной патологии весьма низкие, что в первую очередь связано с агрессивным течением заболевания и отсутствием информации о локализации первичной опухоли. Поиск первичного очага может способствовать улучшению результатов лечения, поскольку от своевременного получения полной информации о локализации и размерах новообразования, а также распространенности опухолевого процесса зависит точное определение стадии заболевания и выбор адекватной тактики лечения. В настоящее время активно изучаются возможности совмещенной позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии (ПЭТ-КТ) в диагностике опухолей различных локализаций, в частности и в диагностике первично-метастатического поражения лимфоузлов шеи. В ряде случаев данный метод оказывается эффективным поскольку в отличие от стандартных диагностических методов, ПЭТ определяет метаболический опухолевый статус, позволяет визуализировать опухолевые очаги малого размера и проводит исследование всего тела. То есть, в пределах одного исследования возможно не только выявить первичный очаг, но и оценить распространенность опухолевого поражения.

Целью нашего исследования явилось оценка эффективности ПЭТ-КТ в диагностике первично-метастатического поражения лимфоузлов шеи.

Материал и методы. Было проведено ПЭТ-КТ 30 больным с первично-метастатическим поражением лимфоузлов шеи. Все больные были предварительно детально обследованы и единственным проявлением заболевания у них было метастатическое поражение лимфоузлов шеи, которое во всех случаях было морфологически подтверждено, а первичный очаг выявлен не был. Среднее время диагностического поиска от момента первичного обращения до проведения ПЭТ-КТ составило 2,5 месяца. Среди включенных в исследование преобладали мужчины – 73%. Средний возраст пациентов составил 63 года.

Результаты и обсуждение. В результате ПЭТ-КТ исследования у 8 (27%) больных был выявлен и гистологически верифицирован первичный очаг. В 4 случаях подтвержден рак ротоглотки, у остальных: рак носоглотки, рак пищевода, рак легкого, рак гортаноглотки. Все больные подвергнуты специфическому лечению в соответствии с локализацией опухолевого процесса.. Из них 6 пациентам удалось провести радикальное лечение и они находятся на динамическом наблюдении.

У 50% больных с помощью этого метода получена новая информация о распространенности основного процесса, выявлено метастатическое поражение легких, костей, головного мозга, печени, лимфоузлов средостения, что привело к пересмотру тактики их лечения в пользу системного.

И только в 20% случаев никаких дополнительных данных при ПЭТ-КТ выявлено не было, т.е. выявлена метаболическая активность только в пораженных лимфоузлах шеи.

ОПУХОЛИ ГОЛОВЫ И ШЕИ

Чувствительность ПЭТ-КТ в диагностике первично-метастатическом поражении лимфоузлов шеи в нашем исследовании составила 80%, специфичность – 67%, а точность – 65%. Таким образом, в 80% случаев данные полученные при ПЭТ-КТ помогли клиницисту сформировать полное представление о распространенности опухолевого процесса, в некоторых случаях выявить первичный очаг и тем самым позволили выбрать оптимальную тактику лечения больных.

Заключение. Считаем, что ПЭТ-КТ должна быть включена в алгоритм обследования данной категории больных.

Новый кандидатный биомаркер прогноза плоскоклеточного рака головы и шеи

Какурина Г. В., Кондакова И. В., Черемисина О. В.,
Шишкин Д. А., Чойнзонов Е. Л.

Место работы: Томский НИИ онкологии, г. Томск

e-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Актуальность. Плоскоклеточный рак головы и шеи (ПРГШ) отличается долгим бессимптомным течением и высокой агрессивностью [Чойнзонов Е. Л. и др., 2006]. Не смотря на активный поиск маркеров прогрессии ПРГШ, до сих пор не предложен ни один вариант диагностической панели, а в литературе существуют малочисленные и разноречивые данные о характере изменения белкового состава сыворотки крови в связи с клинико-морфологическими характеристиками заболевания [Какурина Г. В. и др., 2012]. Поэтому поиск белковых маркеров, позволяющих прогнозировать биологическое поведение опухоли является одним из приоритетных направлений в теоретической и практической онкологии. Применение высоко технологичных новых методологий открывает большие возможности в плане поиска новых диагностических инструментов для прогноза опухолевого заболевания и/или таргетной терапии, в том числе и ПРГШ.

Цель исследования. Сравнительный анализ белкового спектра сыворотки крови в группах больных ПКГШ с метастазами, без метастазов и здоровых волонтеров с помощью протеомного анализа, а также выбор и оценка кандидатного маркера.

Материалы и методы. Материалом для протемного анализа явилась сыворотка крови 20 первичных больных ПРГШ с гистологически верифицированным диагнозом и 10 здоровых волонтеров. Группа обследованных лиц были сопоставимы. Средний возраст обследованных лиц составил 53±5,3 года. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента 39 РФ от 24.12.93 № 2288), получено разрешение этического комитета института. Сыворотку крови получали в соответствии с утвержденным протоколом, хранили при –800С.

Активность сывороточных протеаз ингибировали с помощью набора Protease Inhibitor Cocktail (Sigma, USA). Затем сыворотка крови очищалась от избыточных белков на колонках Albumin & IgG Depletion SpinTrap (GE Healthcare, США). Концентрацию общего белка во всех образцах измеряли методом Брэдфорда [Bradford M. M., 1976 г.] и доводили до 5мг/мл. Затем сыворотка крови подвергалась денатурирующему гель-электрофорезу по методу Laemmli U. K. в пластинах градиентного 8–16%-ного ПААГ в присутствии 0,1% SDS. Количество наносимого белка на дорожку составило 20 нг/мл. Обнаружение белковых зон в ПААГ-гелях осуществляли окрашиванием Coomassie Brilliant Blue R-250.

Анализ изображений гелей проводили с помощью специализированного программного обеспечения Analysis Software PDQuest 8.0.1. системы гель-документирования VersaDoc Imaging System (4000 MP, Bio-Rad). Для дальнейшего анализа выбирались белковые полосы имеющие различие в интенсивности окрашивания, которые вырезали и подвергали протеолизу согласно методу Rosenfeld J., 1992. Смесь пептидов элюировали с микроколонок C18 ZipTips (Millipore Corporation, Billerica, MA) на мишень приборной пластины насыщенным раствором матрикса (10 мг/мл СНСА или ТНАР в смеси 50% ацетонитрила и 0,1% ТФУ).

Масс-спектрометрический анализ проводили на масс-спектрометре UltraFlexIII TOF/TOF (Bruker, США). Масс-спектры пептидных фрагментов снимали в диапазоне молекулярных масс от 200 Да до 4 кДа, с матрицей СНСА/ТНАР с точностью до 0,002%. Идентификацию и анализ белков проводили с использованием алгоритма Mascot, программы Biotoools 3.2 (BrukerDaltonics, Германия, <http://www.bdal.de>), баз данных NCBI и SwissProt. Не идентифицированные программой Biotoools 3.2, пептидные последовательности анализировали с помощью программы «секвенирование De Novo».

Для подтверждения результатов протеомного анализа проводился ИФА анализ выбранного кандидатного маркера CAP1 в сыворотке и ткани 46 первичных больных ПРГШ (Т1–4N0–3M0) с гистологически верифицированным диагнозом и сыворотке 15 здоровых волонтеров. Анализ сыворотки крови и гомогенатов ткани проводили с помощью ИФА набора Human Adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) ELISA kit (Cusabio) на микропланшетном ИФА ридере Anthos Reader 2020 (Biochrom). Статистическую обработку данных проводили с применением пакета программ Statistica 8.0.

Результаты исследования. Сравнение электрофореграмм сыворотки крови здоровых лиц и всех обследованных групп больных ПКГШ выявило различия в интенсивности белковых полос в диапазоне масс от 10 кДа до 150 кДа. В группах больных ПРГШ без метастазов и здоровых лиц выявлены различия в интенсивности окраски полос, содержащих белки массой 10кДа, 25 кДа, 50 кДа и 75 кДа.

У всех больных, имеющих регионарные метастазы, обнаружены белковые полосы массой в районе масс 10 кДа, 12кДа, 15 кДа, 18 кДа, 40 кДа, 100 кДа, интенсивность которых была выше по сравнению с группой здоровых и группой пациентов с ПРГШ без метастазов.

Идентификация белков в выделенных бендах показала наличие аполипопротеина А1 и А2, серотрасферрина, аденилциклаза-ассоциированного протеина 1 (CAP1), протеинфосфатазы 1В (PPM1B), комплемента С3, матриксного экстрацеллюлярного фосфогликопротеина (MEPE), сывороточного амилоида А. Изменение уровня аполипопротеина А1–2, серотрансферрина, сывороточного амилоида А и комплемента С3 при опухолях различной локализации подтверждается литературными данными и отражает реакцию организма на развитие патологического процесса [Dowling P., 2012; Farrah T., 2011].

Анализ и сопоставление результатов работы с литературными данными позволил выделить несколько кандидатных маркеров для прогноза прогрессии ПРГШ, в том числе CAP1, который участвует во многих сложных клеточных процессах, включая локализацию мРНК, поддержание полярности клетки, клеточной подвижности и рецептор-опосредованного эндоцитоза [Zhang H et al, 2013].

РАК ЛЕГКОГО (ХИРУРГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ)

Анализ содержания CAP1 в сыворотке крови показал достоверное различие во всех группах ($\chi^2 = 15.59621$; $df = 5$; $p = 0.0081$). С ростом первичной опухоли (показатель Т) наблюдалось увеличение содержания CAP1 ($p \leq 0.05$). В группе больных ПРГШ с регионарными метастазами содержание сывороточного CAP1 было выше почти в 6 раз ($P \leq 0.01$) по отношению к группе больных без метастазов.

Анализ содержания CAP1 в ткани больных ПКГШ показал, что количество белка изменяется в зависимости от размера первичного опухолевого очага, причем зависимость носит нелоообразный характер ($\chi^2 = 9.4739$; $df = 2$; $p = 0.0088$). Высокое содержание CAP1 наблюдается при стадиях заболевания Т 1N0M0 и Т 3–4N0M0. Пораженность лимфоузлов метастазами не оказывала значимого влияния на содержание белка в опухолевой ткани больных ПКГШ ($p = 0.09$), хотя наблюдалась тенденция к увеличению CAP1 при их наличии.

Заключение. Таким образом, протеомным анализом были отмечены различия в составе белков сыворотки крови в группах здоровых волонтеров и больных ПРГШ с метастазами и без клинического проявления прогрессирования заболевания. В сыворотке крови больных ПРГШ содержатся белки, участвующие в различных клеточных процессах, которые могут быть предложены для дальнейшего изучения в качестве потенциальных маркеров опухолевой прогрессии.

Проведенный нами подтверждающий анализ с помощью ИФА метода показал зависимость содержания CAP1 в сыворотке крови от размера первичного опухолевого очага и наличия лимфогенных метастазов у больных ПРГШ. Тканевое содержание этого белка также зависело от стадии заболевания, однако наличие пораженных метастазами регионарных лимфоузлов достоверно не оказывало влияние на количество исследуемого белка. Снижение содержания CAP1 в группе T1N0M0 по сравнению с группой пациентов с диспластическими изменениями слизистой оболочки гортани и гортаноглотки может иметь важное значение для своевременной диагностики ПРГШ.

Наши данные свидетельствуют о возможности использования определения CAP1 в сыворотке крови для прогноза метастазирования ПРГШ. Полученные результаты не противоречат данным мировой литературы, где также CAP1 предлагается как маркер прогноза прогрессирования рака поджелудочной железы [Yamazaki K., 2009], эзофагального рака [Mei Li, 2013]. Кроме этого результаты работы свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения выявленных протеомным анализом белков в качестве маркеров прогрессии ПРГШ.

Анализ транслокации в гене ALK методом гибридизации in situ (FISH) у пациентов с аденокарциномой легкого на Юге России

Дваденко К. В., Водолажский Д. И., Владимирова Л. Ю.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnoi@list.ru

Введение. Рак легкого занимает одно из ведущих мест в структуре онкологической заболеваемости в России. Около 80% гистологических типов данной патологии представлено не-

мелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), к которому относятся аденокарцинома, плоскоклеточный рак, бронхоальвеолярный и крупноклеточный рак. Изучение генетической структуры НМРЛ в течение последнего десятилетия выявило большое разнообразие молекулярных механизмов, действующих генетические нарушения в таких онкогенах как AKT1, ALK, BRAF, EGFR, HER2, KRAS, NRAS, MEK1, MET, PIK3CA, RET, ROS1.

Цель. Определение перестроек гена киназы анапластической лимфомы (ALK) при НМЛР для получения более полных представлений о молекулярно-генетическом профиле опухоли у конкретных пациентов, а также подбора больных, подходящих для терапии кризотинибом.

Материалы и методы. Проведено исследование 124 пациентов с НМРЛ (аденокарцинома легкого) получавших стационарное лечение в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации. В группе пациентов EGFR(–)/ALK(–) ($n = 96$) было 63% мужчин и 37% женщин, а доля курящих составила 54%. На первом этапе исследования статус мутаций гена EGFR в парафиновых блоках операционного материала и бронхиобисий тканей пациентов был проанализирован методом ПЦР-РВ («EGFR RGQ PCR Kit QIAGEN», Германия). На втором этапе EGFR-негативные случаи (103 пациента) исследовались методом FISH («ALK FISH DNA Probe, Split Signal», Dako, США). Образец считался ALK-позитивным, если при анализе 50 ядер опухолевых клеток обнаруживалось свыше 15% ядер с расхождением зеленого и красного сигналов, больше чем на два диаметра красного сигнала, что и свидетельствовало о транслокации гена ALK.

Результаты и Выводы. При исследовании тканей аденокарциномы легкого у 103 пациентов с EGFR-отрицательным статусом транслокация гена ALK с помощью метода FISH была обнаружена у 7 пациентов (6,8%). Возраст пациентов с транслокацией в гене ALK составил от 30 до 65 лет: до 55 лет – 3, старше 55 лет – 4 человека. Из них мужчин – 3 (двое – курящие), женщин – 4 (одна курящая).

Таким образом, в группе из 4 некурящих пациентов, имеющих EGFR-отрицательный статус и транслокацию гена ALK, 75% пациентов были представлены женщинами и 25% пациентов – мужчины, что говорит о выраженной гендерной тенденции в индукции транслокаций в гене ALK в группе некурящих пациентов: у женщин они наблюдались в 3 раза чаще чем у мужчин. В группе курящих пациентов, имеющих EGFR-отрицательный статус, транслокация в гене ALK у мужчин встречалась в 2 раза чаще, чем у женщин. Данные результаты свидетельствуют о важности учета статуса курения и гендерных различий пациентов при анализе транслокаций в гене ALK.

Заключение. Корреляции между транслокацией гена ALK и возрастом, полом, а также статусом курения пациентов носят предварительный характер, что обусловлено небольшими размерами исходной выборки пациентов, а также редкой встречаемостью транслокации ALK в популяциях, которая по разным данным колеблется от 3 до 13%.

Частота проявления мутаций в гене EGFR в различных возрастных группах пациентов Юга России

Водолажский Д. И., Гудуева Е. Н., Дваденко К. В., Енин Я. С., Олейников Д. Д.

РАК ЛЕГКОГО (ХИРУРГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ)

Место работы: ФГБУ Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону, Россия
e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Цель. По данным ВОЗ во всем мире в 2012 году от рака легких (наряду с раком трахеи и бронхов) умерли 1,6 миллиона (2,9%) человек по сравнению с 1,2 миллиона (2,2%) человек в 2000 году. Употребление табака является самой значительной отдельной предотвратимой причиной рака – более 20% смертей в мире от рака легких связаны с употреблением табака.

Самым эффективным средством терапии онкологических заболеваний на сегодняшний день является использование таргетных препаратов. Соматические мутации в гене EGFR у больных немелкоклеточным раком легкого определяют чувствительность или устойчивость клеток опухоли к таргетной терапии ингибиторами тирозинкиназ – гефитинибом (иресса) или эрлотинибом (тарцева).

Скрининг биоптатов немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) существенно увеличивает эффективность применения таргетных препаратов и поэтому на сегодняшний день является неотъемлемой частью таргетной терапии онкологических заболеваний. Многочисленные исследования продемонстрировали неоднородность возникновения как количества, так и качества SNP-полиморфизмов в гене EGFR разных клинических, гендерных и возрастных групп пациентов.

Одним из основных факторов риска развития онкологических заболеваний является возраст, при этом заболеваемость раком легкого существенно увеличивается после 55 лет. Ежегодно в России заболевает раком легкого приблизительно 50 000 человек, из которых 54% погибает на первом году жизни после установления диагноза, а 65% – обращаются за медицинской помощью уже с запущенными стадиями развития онкологического заболевания.

В силу этого целью данного исследования служило изучение частот полиморфизмов 29 мутаций соматического происхождения в гене EGFR в парафиновых блоках (FFPE) опухолевых биоптатов в различных возрастных группах пациентов Юга России с диагнозом «аденокарцинома легкого».

Материалы и методы. В данное исследование были включены 435 пациентов больных аденокарциномой легкого, получавших стационарное лечение в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ. Проведен анализ возрастных отличий в частотах проявления мутаций в гене EGFR с учетом гендерных особенностей и статуса курения: мужчины – 278 человек (64%) и женщины – 157 человек (36%).

Пациенты были разбиты на возрастные группы по возрасту – младше 60 лет и старше, а так же по статусу курения. Для молекулярно-генетических исследований использовались FFPE блоки, содержащие не менее 20% опухолевой ткани. Экстракция ДНК проводилась после стандартной процедуры депарафинизации с использованием набора QIAamp® DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Германия). Детекцию 29 соматических мутаций в гене EGFR проводили с помощью набора реагентов «Therascreen EGFR RGQ PCR Kit» (QIAGEN, Германия) с использованием термоциклера Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия). Статистический анализ проводили с использованием программы STATISTICA 7, в которой оценивали достоверность различий с использованием непараметрического критерия χ^2 , для общепринятого уровня статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты. Согласно полученным в нашем исследовании данным, мутации в гене EGFR были выявлены у 15% пациен-

тов. При анализе данных с учетом возрастного и гендерного признаков было установлено, что в группе старше 60 лет у курящих мужчин частота встречаемости мутантного типа гена EGFR составляет 20,5%, что почти в 15 раз выше, чем в группе таких же больных с возрастом менее 60 лет – 1,4% ($\chi^2 = 13,87$; $p = 0,0002$). При исследовании группы старше 60 лет не курящих пациентов мужского пола было выявлено, что частота мутаций составила 35,4%, что почти в 8 раз больше, чем в группе моложе 60 лет не курящих пациентов мужского пола – 5,2% ($\chi^2 = 15,36$; $p = 0,0001$).

Противоположная картина наблюдается при анализе зависимости частоты мутаций в гене EGFR от возраста и статуса курения у женщин. В группе старше 60 лет курящих женщин частота мутаций составила 30%, при этом в аналогичной группе моложе 60 лет мутаций не было обнаружено ($\chi^2 = 0,80$; $p = 0,3711$). В группе у пациентов моложе 60 лет, не курящих женщин доля мутантного типа гена EGFR составила 50%, что на 10% больше, чем в группе старше 60 лет – 40,6% ($\chi^2 = 1,22$; $p = 0,2687$).

Заключение. В проведенном исследовании выявлены различия частоты проявления мутаций в гене EGFR в различных возрастных группах пациентов Юга России с учетом гендерных отличий и статуса курения. В ходе анализа установлено, что в группе моложе 60 лет у мужчин, которые никогда не курили, частота мутаций составила 5,2%, что в 7 раз меньше, чем в аналогичной группе пациентов старше 60 лет (35,4%).

При сравнении группы моложе 60 лет куривших мужчин доля мутантного типа составила 1,4%, что в 15 раз меньше, чем в группе курящих мужчин старше 60 лет – 20,5%. В рамках нашего исследования отличия в возрастных группах моложе и старше 60 лет курящих и не курящих мужчин статистически достоверны для уровня значимости $p < 0,05$.

Мутантный тип гена EGFR в группе курящих женщин моложе 60 лет не был обнаружен, при этом частота мутаций в аналогичной группе старше 60 лет составила 30%. В группе моложе 60 лет у не куривших женщин частота мутаций составила – 50%, что на 10% больше, чем в группе старше 60 лет у женщин которые так же не курили 40,6%. Данные отличия имели характер тенденции и не являлись статистически достоверными. Полученные данные выявили существенные различия частот проявления мутаций в гене EGFR у пациентов мужского пола 2 возрастных групп – моложе и старше 60 лет вне зависимости от статуса курения. Более высокая частота проявления мутаций обнаружена в гене EGFR в группе старше 60 лет как курящих, так и не курящих мужчин по сравнению с аналогичной группой моложе 60 лет. У женщин не зависимо от возраста и статуса курения наблюдались сходные тенденции в частоте проявления мутаций в гене EGFR.

Взаимосвязь между уровнем циркулирующих опухолевых клеток и параметрами иммунного статуса больных генерализованными формами рака легкого

Новикова И. А., Златник Е. Ю., Исаева Р. Г., Селютина О. Н., Шульгина О. Г., Матвеева Е. И., Бахтин А. В.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель исследования. Оценить взаимоотношение наличия и уровня циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) с неко-

РАК ЛЕГКОГО (ХИРУРГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ)

торыми параметрами клеточного иммунитета у больных генерализованными формами рака легкого.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено 20 больным раком легкого (РЛ) IV стадией заболевания (Т 2–3 N2–3 M1) в возрасте от 52 до 75 лет. У 11 человек (55%) гистологический тип опухоли соответствовал немелкоклеточному раку (НМРЛ), у 9 (45%) – мелкоклеточному (МРЛ). Анализ образцов крови на наличие ЦОК осуществляли на системе CellSearch с использованием набора реагентов CELLSEARCH® CTC Kit. По количеству ЦОК больные были разделены на группы с низким количеством (до 10) ЦОК, средним (от 11 до 100) ЦОК, и высоким (свыше 100) ЦОК.

Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов определяли на проточном цитометре BD FACSCantoII. Протоколы интерпретации данных включали определение основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови, количества Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+CD127dim), NKT-клеток, двойных негативных CD3+/CD4-/CD8- (DN) и двойных позитивных CD3+/CD4+/CD8+ (DP) Т-лимфоцитов, а также количества Т-хелперов (CD3+CD4+) и цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ, CD3+CD8+), экспрессирующих активационные маркеры (CD25, CD38, CD95, HLA-DR).

Результаты выражали в процентах от общего количества лимфоцитов, а для Т-регуляторных клеток в процентах от CD3+CD4+ клеток. Статистический и корреляционный анализ результатов исследования проводили с помощью программы STATISTICA 7.0 (StatSoftInc., США), статистически достоверные различия принимали при $p < 0,05$; при коэффициенте корреляции (r) от 0,91 до 1,00 теснота связь определялась как очень сильная, от 0,81 до 0,90 – весьма сильная, от 0,65 до 0,80 – сильная, от 0,45 до 0,64 – умеренная, от 0,25 до 0,44 – слабая, до 0,25 – очень слабая.

Результаты. ЦОК были выявлены у 16 из 20 больных раком легкого (80%) в количестве от 1 до 980 клеток в 7,5 мл крови, при НМРЛ у 10 из 11 (в 91%), при МРЛ у 6 из 9 человек (в 66,7%). Доля больных раком легкого с количеством ЦОК от 1 до 10 клеток составила 50% (8 из 16 больных), с уровнем ЦОК от 11 до 100 и свыше 100 клеток, по 25% (4 из 16 больных). При МРЛ количество ЦОК находилось в пределах от 1 до 980, тогда как при НМРЛ от 1 до 13 клеток.

Сравнение показателей клеточного иммунитета у больных РЛ при обнаружении у них различного количества ЦОК показало ряд статистически значимых различий. При высоком уровне ЦОК (выше 100) отмечено достоверно более низкое процентное содержание CD3+CD4+ лимфоцитов по сравнению с показателями больных, у которых ЦОК были обнаружены в количествах до 100. Противоположные различия отмечены для CD3+CD8+CD38+, хотя по общей субпопуляции CD3+CD8+ лимфоцитов они не установлены. Уровень CD3+CD8+CD38+ лимфоцитов был статистически достоверно выше у больных с максимальным содержанием ЦОК по сравнению с остальными группами.

Обращают на себя внимание более низкие значения ряда показателей у больных со средними значениями уровней ЦОК, однако, статистически достоверные различия выявлены только для В-лимфоцитов, относительное содержание которых было в 3 раза ниже, чем в остальных группах, а также для Т-regs, количество которых было в 2 раза ниже, чем у больных с высоким содержанием ЦОК. При этом у больных со средними уровнями ЦОК обнаружено более высокое содержание Т-лимфоцитов обеих основных субпопуляций с маркерами

поздней активации CD3+CD4+HLA-DR+ и CD3+CD8+HLA-DR+, которое вследствие значительной индивидуальной вариативности определялось в виде тенденции.

При проведении корреляционного анализа наличия в крови больных ЦОК и исследованных иммунологических параметров выявлена сильная отрицательная корреляционная связь ($r = -0,87$) между присутствием в крови ЦОК и CD3+CD4+ клеток. Подобная закономерность наблюдается и для показателя соотношения CD4+/CD8+ ($r = -0,53$). Сильная положительная корреляция ($r = 0,78$) обнаружена между уровнем CD3+CD8+CD38+ лимфоцитов и наличием ЦОК. Уровень ЦОК демонстрирует сильную корреляционную связь с некоторыми минорными субпопуляциями лимфоцитов: CD3+CD4+CD25+ ($r = 0,74$) и CD3+CD4+CD8+ ($r = 0,67$), при этом показана умеренная корреляция с CD3+CD8+CD25+ ($r = 0,45$).

Заключение. Высокий уровень ЦОК характеризовался достоверно более низким относительным содержанием CD3+CD4+ лимфоцитов, а также достоверно высоким содержанием Treg и CD19+ лимфоцитов. Количество Treg клеток, с которыми, по современным представлениям, связана иммунодепрессия и прогрессирование опухоли, не продемонстрировали ни статистически достоверных различий, ни корреляций с наличием ЦОК, однако, выявленная положительная корреляционная связь последнего с долей лимфоцитов, экспрессирующих CD4+CD25+, позволяет предположить участие Tregs в процессе гематогенного метастазирования, тем более, что она выявлена на фоне отрицательной корреляции с общим количеством лимфоцитов Т-хелперно-индукторной субпопуляции (CD3+CD4+).

У больных с высокими значениями ЦОК выявленная положительная корреляция уровней DP (CD3+CD4+CD8+) лимфоцитов и ЦОК, по-видимому, связана с увеличением выброса незрелых клеток из тимуса, возможно, компенсаторным. Этим же можно объяснить и повышение уровня CD3+CD8+CD38+ клеток, однако, то обстоятельство, что подобные изменения не распространяются на лимфоциты с фенотипом CD3+CD4+CD38+, говорит о нарушении Т-хелперного звена еще на уровне посттимических предшественников. Полученные нами результаты о повышении содержания клеток этой субпопуляции на фоне высокого уровня ЦОК в целом соответствуют представлениям об их негативной роли при распространенных опухолевых процессах. Исследования, направленные на определение уровня ЦОК в сочетании с детальной оценкой иммунного статуса для расширения представлений о механизмах метастазирования, и как следствие, поиска подходов для их профилактики продолжаются.

Иммуногистохимический метод при ALK-тестировании немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) как альтернатива FISH-исследованию

Новикова И. А., Ульянова Е. П., Непомнящая Е. М.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Оценить эффективность иммуногистохимического метода (ИГХ-теста) с целью обнаружения белка киназы анапластической лимфомы (ALK) в тканях немелкоклеточной кар-

РАК ЛЕГКОГО (ХИРУРГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ)

циномы легкого.

Материалы и методы. Исследования проведено 225 больным НМРЛ, проживающим на территории Юга РФ в возрасте от 21 до 50 лет 19,1% (43 человека) и от 50 и старше 60 лет 80,9% (182 человека). Для выявления экспрессии ALK использовали первичные моноклональные кроличьи антитела VENTANA анти- ALK (D5F3).

Окрашивание проводили на иммуноштейнере VENTANA BenchMark GX на образцах тканей больных первичным НМРЛ, включая материал резекций и бронхиопсий, фиксированных в формалине и залитых в парафин, с применением системы детекции OptiView DAB IHC Detection Kit и набором для амплификации сигнала OptiView Amplification Kit. Исследования проводились в образцах ткани НМРЛ после подтверждения EGFR-отрицательного статуса опухоли молекулярно-генетическим методом исследования. Позитивным ALK-статус считался в случае ярко выраженного гранулярного цитоплазматического окрашивания опухолевых клеток (любая доля позитивных клеток).

После обнаружения белка киназы анапластической лимфомы (ALK) в тканях НМРЛ материал направлялся на FISH-исследование с применением «ALK FISH DNA Probe, Split Signal», Dako, США. Образец считался ALK-позитивным, если при анализе 50 ядер опухолевых клеток обнаруживалось свыше 15% ядер с расхождением зеленого и красного сигналов, больше чем на два диаметра красного сигнала, что и свидетельствовало о транслокации гена ALK.

Результаты. Проведенный анализ на наличие ALK-позитивных пациентов выявил 7,5% случаев (у 17 из 225 больных), где отмечалось равномерное ярко-выраженное гранулярное цитоплазматическое окрашивание опухолевых клеток. Из них 52,9% (9 человек из 17) были мужчинами и 47,1% (8 из 17) женщинами. Возраст больных от 46 до 78 лет (средний возраст $56 \pm 2,4$ года).

В группе ALK-позитивных наблюдений операционный материал был исследован у 10 человек (58,8%), биопсийный – у 7-ми (41,2%). На FISH-исследование был отправлен материал всех ALK-позитивных пациентов. Но из-за трудоемкости метода было сделано 10 случаев. Из них 8 (80%) подтвердили наличие транслокации гена ALK, 2 (20%) оказались неинформативными для FISH-метода. Отрицательный ALK-статус был определен в 92,5% случаев (у 208 из 225 больных).

Из них мужчины – 138 человек (66,3%), женщины – 70 человек, что составляет 33,7%. Из ALK-негативных случаев операционный материал исследован у 113 больных (54,3%), биопсийный – 95 (45,7%). Данный показатель встречаемости ALK-перестройки соответствует общемировому (частота встречаемости 2–7%).

Заключение. Таким образом, метод иммуногистохимического окрашивания – это достаточно чувствительный, специфичный и самостоятельный метод для определения ALK-статуса опухоли и может являться альтернативой более дорогому и трудоемкому FISH-исследованию для назначения таргетных препаратов больным НМРЛ.

Явление потери гетерозиготности в антионкогенах p21 (A1026G и G369C) и Bax (G248A) у больных раком легкого

Дмитриева А. И.^{1,2}, Янкович К. И.^{1,2}, Серебрякова В. А.^{1,2}, Ракитин С. С.^{1,2}, Новицкий В. В.¹

Место работы: 1. ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск; 2. ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск

e-mail: alladmitrieva@mail.ru

Актуальность. Развитие рака легкого является сложным многоступенчатым процессом накопления эффектов структурных и функциональных изменений различных групп генов. Одним из таких генетических изменений может стать явление потери гетерозиготности, которое приводит клетку к гомозиготному состоянию по вариантному аллелю, ассоциированному с повышенным онкологическим риском.

Особый интерес вызывают антионкогены, в норме предотвращающие злокачественную трансформацию клетки. Продукт гена p21 является супрессорным белком, который препятствует делению клетки, блокируя продвижение по постсинтетической фазе G2 и вход в митоз. Ген p21 является одной из основных мишеней транскрипционного действия p53, ключевого регулятора, который может координировать процесс репарации, либо индуцировать апоптоз. Поэтому любые изменения в функционировании гена p21 могут нарушить неустойчивое равновесие механизмов, регулирующих клеточный цикл, и оказать онкогенное влияние. Белковый продукт гена Bax, являющийся членом семейства Bcl-2, способен формировать bax-bax димеры, усиливающие действие активаторов апоптоза. В работах зарубежных авторов показано, что полиморфизм G248A этого гена, локализованный в промоторном регионе, приводит к снижению экспрессии этого гена.

Цель. Провести анализ потери гетерозиготности генов-регуляторов клеточного цикла p21 (A1026G и G369C) и Bax (G248A) в ткани опухоли легкого.

Материал и методы. Исследовано 93 парных ДНК-образца, полученных из операционного материала (опухолевая ткань легкого и соответствующие им образцы гистологически не измененной легочной паренхимы) больных центральным раком легкого. Выделение геномной ДНК проводили из парафиновых блоков с использованием коммерческого набора «FF-PET DNA kit» (Qiagen, Германия), следуя инструкции производителя. Парафиновые срезы, полученные методом стереотактической диссекции под контролем световой микроскопии, депарафинизировали с использованием ксилола и этанола. Поиск потери гетерозиготности биаллельных локусов генов p21 и Bax проводили путем сравнительного генотипирования опухолевой ткани и ткани, взятой на границе резекции. Типирование образцов по полиморфизмам исследуемых генов проводили путем ПЦР-ПДРФ-анализа. Продукты ПДРФ анализировали в 4%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия и визуализировали в проходящем УФ-свете.

Результаты. Исследование A1026G-полиморфизма гена p21 обнаружило явление потери гетерозиготности в данном локусе при раке легкого. Анализ позволил установить статистически значимое ($p=0,01$) увеличение частоты встречаемости гомозиготного генотипа А (73,12%) и уменьшение частоты гетерозиготного генотипа AG (13,98%) в опухолевой ткани

РАК ЛЕГКОГО (ХИРУРГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ)

по сравнению с аналогичными показателями в нормальной ткани (55,91% и 34,41% соответственно). Различий в распределении генотипов гена p21 G369C между опухолевой и нормальной тканью легкого выявлено не было.

У 12 из 21 (57,14%) носителя GA-генотипа гена Вах была обнаружена потеря гетерозиготного статуса клетками опухолевого клона, причем во всех случаях имела место утрата аллеля А. Установлено значимое ($p=0,01$) увеличение частоты встречаемости гомозиготного генотипа G (89,25%) и снижение частоты гетерозиготного GA-генотипа (9,68%) в опухолевой ткани по сравнению с аналогичными показателями в нормальной ткани (72,04% и 22,58% соответственно).

Заключение. Установленное у больных раком легкого явление потери гетерозиготности для полиморфизма A1026G гена p21 может приводить к снижению транскрипционной активности супрессорного гена за счет утраты протективного G-аллеля. Промотор гена p21, в котором присутствует аллель А A1026G-полиморфизма, обладает меньшей эффективностью, в результате чего синтез белка p21, главного эффектора остановки клеточного цикла в ответ на повреждение ДНК, снижается.

Утрата протективного аллеля А в промоторном регионе G248A гена Вах ассоциирована со снижением экспрессии этого гена. Известно, что полиморфизм G248A расположен в непосредственной близости от p53-response element – участка ДНК, с которым связывается главный транскрипционный фактор – белок p53. Таким образом, потеря гетерозиготного статуса антионкогенов, регулирующих клеточный цикл, может явиться определяющим фактором в процессе опухолевой трансформации.

Хирургические аспекты лечения местнораспространённого рака грудного отдела пищевода

Роман Л. Д., Шостка К. Г., Арутюнян К. В., Кузнецов И. М.
Место работы: ГБУЗ «Ленинградский областной онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург, Россия
e-mail: kseniya-arutyunyan@mail.ru

Актуальность. Рак пищевода несет значительное бремя в системе здравоохранения, что составляет 482 новых случаев рака в мире за 1 год. Данная патология занимает восьмое место по наиболее распространенным злокачественным опухолям, шестое место среди самых распространенных причин смерти у онкологических больных, и приводит к 407 смертей ежегодно (5,4%). (Ferlay 2010). Согласно данным о состоянии онкологической помощи населению в 2012 году распространенность рака пищевода в России составляет 8,2% на 100.000 населения и занимает 18 место среди всех злокачественных новообразований.

Одной из основных причин неудач в лечении данной локализации является позднее обращение пациентов за медицинской помощью (III стадия- 36,2%; IV- 29,2%), то есть более 50% пациентов впервые за медицинской помощью обращаются с III и IV стадией заболевания. Данное обстоятельство обуславливает неудовлетворительные результаты лечения этой патологии и всегда является актуальной для онкологов. В настоящее время мировым стандартом в лечении больных с II и III стадиями заболевания является химиолучевая терапия. Одним из противопоказаний к проведению ХЛТ является угроза возникновения или наличие свищей. Единственным

возможным методом лечения для этих пациентов является хирургический.

Цель исследования. Оценить целесообразность комбинированных операций у больных местнораспространённым раком пищевода.

Материалы и методы. В период с 1998 года по 2012 год в нашем центре оперировано 604 пациента по поводу рака пищевода. У 424 пациентов (70,1%), поражение пищевода носило местнораспространённый характер, глубина инвазии опухолевой стенки пищевода классифицирована как T4a или T4b при степени регионарного метастазирования от N0 до N3, либо Nx и отсутствии отдалённых метастазов. В 309 (72,9%) случаях больным местнораспространённым раком пищевода произведена комбинированная субтотальная резекция пищевода; в 115 (27,1%) эндоскопическая установка стента в область опухолевой стриктуры или формирование гастростомы.

Всем пациентам первой группы выполнены комбинированные операции, в ходе которых резекции пищевода сочетались с анатомическими резекциями соседних органов. Оперативным вмешательствам предшествовала детальная оценка распространенности опухолевого процесса по данным лучевой диагностики (СКТ, МРТ, ПЭТ/КТ, эндосонографическое исследование верхних отделов желудочно-кишечного тракта, фибробронхоскопия) и функциональной операбельности (комплексное функциональное исследование внешнего дыхания, ЭХО-КГ, при необходимости- суточное мониторирование по Холтеру).

Протяжённость первичной опухоли: до 5 см в 20 случаях (6,6%), от 5 до 8 см в 159 случаях (51,3%), более 8 см в 130 случаях (42,1%). По морфологической структуре в 95,5% (295 пациентов) плоскоклеточный рак. Все комбинированные операции сопровождались систематической двухзональной лимфодиссекцией. Средняя продолжительность операций составила 210 минут. Средний объем кровопотери 300 мл. Послеоперационные осложнения отмечены у 139 больных (45%). Послеоперационная летальность составила 9,1% (28 пациентов). Выживаемость в этой группе составила: 1 год – 144 пациента (46,6%), 3 года- 62 пациента (20%), 5 лет и более- 35 пациентов 11,3%).

Заключение. Таким образом, для больных с местнораспространённым раком грудного отдела пищевода с учетом противопоказаний к проведению химиолучевой терапии единственно возможным методом лечения является хирургический. Активная хирургическая при местном распространении рака пищевода на соседние органы и структуры оправдана при достоверной оценке распространенности опухолевого процесса с использованием современных методов лучевой диагностики, детальной оценке функциональной операбельности и совершенной хирургической технике, позволяющей до минимума сократить продолжительность операции, интра- и послеоперационные осложнения.

Опыт использования высокопроизводительного секвенирования (NGS) для подбора таргетной терапии при немелкоклеточном раке легкого: преимущества и ограничения

Иванов М. В.¹, Новикова Е. И.², Баранова А. В.³, Милейко В. А.⁴
Место работы: 1. ИХБФМ СО РАН; 2. РНЦПР; 3. МГНЦ РАМН; 4. Геномный центр «Ридсенс»
e-mail: vlad.mileyko@ya.ru

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Цель исследования. Молекулярно-генетическое исследование спектра клинически-значимых мутаций в драйверных генах у пациентов с мелкоклеточным раком легкого с использованием методов секвенирования нового поколения.

Материалы и методы. Исследованы образцы послеоперационного материала 25 пациентов НМРЛ со стадией опухолевого процесса III–IV. После выделения ДНК из парафинизированных блоков, были приготовлены таргетные ДНК-библиотеки с помощью панели Truseq Amplicon Cancer (Illumina). Секвенирование выполняли на платформе Miseq (Illumina) парно-концевыми чтениями по 150 нуклеотидов. Для анализа данных секвенирования и поиска мутаций использовали VariantCaller v2.1 (Illumina) и GATK (Broad Institute).

Результаты. В результате секвенирования получены данные со средним покрытием не менее 2000x, что позволило анализировать даже малопредставленные мутации. Всего клинически значимые мутации обнаружены у 13 пациентов. В том числе, у 8 пациентов из 25 (32%) обнаружены активирующие мутации EGFR. При этом, у одного пациента обнаружена вставка в 19 экзоне 2214_2215insTAAATTCCTCGCTA TC, ранее не описанная в публично доступных базах данных (COSMIC).

Анализ литературы свидетельствует о том, что вставка 6 аминокислот в 19 экзоне свидетельствует об увеличении активного димерного комплекса и повышении эффективности ингибиторов TK EGFR. Следует отметить, что эта мутация не была детектирована с помощью стандартного ПО Illumina Somatic Variant Caller, ввиду того, что она находится на краю чтения и приводит к некорректному выравниванию. Однако, обнаружить мутацию удалось благодаря локальному перевыравниванию последовательности алгоритмом GATK.

В то же время, среди пациентов с мутациями EGFR у одного пациента выявлена вторичная мутация T790M, еще у одного пациента обнаружена вставка в 20 экзоне EGFR, у других 5 пациентов обнаружены мутации гена KRAS и у одного пациента обнаружена мутация гена PIK3CA. Таким образом, следует ожидать низкую эффективность или резистентность (в случае с T790M) терапии TKI у 8 пациентов.

Кроме того, у одного пациента вместе с активирующей мутацией G719V в 18 экзоне в этом же гаплотипе обнаружена мутация, приводящая к сдвигу рамки считывания в 717 кодоне, что свидетельствует о снижении киназной активности EGFR. В этом случае детекция отдельно мутации в 719 кодоне могла бы ложно свидетельствовать о предположительной эффективности ингибиторов тирозин-киназы EGFR.

Заключение. Определение мутаций методом высокопроизводительного секвенирования позволяет дополнительно выявлять редкие мутации чувствительности к ингибиторам EGFR, а также исключать ложно-положительные результаты, характерные для ПЦР. При этом, следует отметить, что для корректной интерпретации данных секвенирования недостаточно использовать программное обеспечение производителя и может потребоваться более сложный биоинформатический анализ с использованием различных алгоритмов поиска мутаций и выравнивания последовательностей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках проекта RFMEFI60714X0098.

Оценка уровня экспрессии гена BECLIN1 у больных колоректальным раком

Ракитин С. С., Дмитриева А. И., Янкович К. И., Кудяков Л. А.

Место работы: ОГБУЗ «Томский областной онкологический диспансер», ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет»

e-mail: rakitinss@yandex.ru

Колоректальный рак одна из ключевых проблем современной онкологии. Отмечено, что частота встречаемости впервые выявленных случаев колоректального рака ежегодно растет (Переводчикова Н. И., 2014). Развитие колоректального рака является комплексным и многостадийным процессом, сопровождающимся изменением работы многих генов-регуляторов клеточного цикла и ключевых механизмов, обеспечивающих функционирование клетки в норме и при патологии. Новым актуальным направлением в изучении особенностей поведения опухолевого клона является поиск ключевых факторов, участвующих в аутофагии, к которым относится белок BECLIN1 (Calabretta B., et al. 2011; Chen Y., et al. 2011).

Цель настоящего исследования заключалась в оценке уровня экспрессии гена BECLIN1 у больных раком сигмовидной кишки с различной степенью дифференцировки и поиске корреляционных связей между уровнем экспрессии данного гена и рецидивированием опухолевого процесса.

Материал и методы. В исследование были включены 72 больных раком сигмовидной кишки (42 мужчины (58%) и 30 женщин (42%)), находящихся на диспансерном учете в ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», средний возраст (\pm SD) которых составил $57,3 \pm 6,9$ лет. Гистологические исследования препаратов опухоли выявили в группе обследованных следующее распределение: умереннодифференцированная аденокарцинома – 49 случаев, низкодифференцированная аденокарцинома – 23 случая, в 5 из которых отмечались очаги рецидивирования в течение трех лет с момента постановки диагноза. Образцы тРНК были выделены из опухолевой ткани, полученной во время оперативного вмешательства и стабилизированной средой RNA-later, с использованием наборов AxyPrepMultisource RNA MiniPrepKit. Оценка уровня экспрессии гена BECLIN1 проводилась методом ОТ-ПЦР с последующей амплификацией кДНК в режиме реального времени. Уровень экспрессии оценивали по относительному содержанию мРНК исследуемого гена BECLIN1 и 18S РНК в этих же образцах. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты. В результате проведенного исследования показано статистически значимое увеличение ($p < 0,05$) экспрессии гена BECLIN1 относительно 18S РНК у пациентов с умереннодифференцированной аденокарциномой по сравнению с аналогичным показателем у больных с низкой степенью дифференцировки рака сигмовидной кишки. У пациентов с низкодифференцированной аденокарциномой и выявленными рецидивами установлено статистически значимое снижение ($p < 0,05$) экспрессии гена BECLIN1 относительно таковой у лиц с безрецидивным течением опухолевого процесса.

Заключение. Таким образом, полученные в ходе исследования данные позволяют сделать вывод, что уровень экспрессии гена BECLIN1 у пациентов с умереннодифференцированной аденокарциномой сигмовидной кишки выше, чем у пациентов с низкой степенью дифференцировки опухоли. Кроме того, оценка данного показателя имеет важное прогностическое значение течения болезни.

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

Учитывая первостепенное значение аутофагии в жизненном цикле опухолевого клона, более глубокое изучение функционирования ключевого фактора аутофагии (BECN1) откроет новые фундаментальные закономерности злокачественной трансформации и тактики терапевтических мероприятий.

Роль молекулярно-генетических нарушений в прогнозировании эффективности ингибиторов VEGF/VEGFR и ингибиторов mTOR в качестве таргетной терапии первой и второй линии больных метастатическим почечнопочечным раком

Ворошилова Е. А., Носов Д. А., Карпухин А. В., Соколова И. Н., Федяннин М. Ю., Апанович Н. В.

Место работы: Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина, г. Москва, Россия

e-mail: voroshilova_ea@mail.ru

Введение. В результате изучения молекулярно-генетических нарушений у больных спорадическими и наследственными формами ПКР выделены потенциальные мишени для противоопухолевого воздействия – фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), рецепторы к ростовым факторам (VEGFR, PDGFR, EGFR, FGFR), сигнальный белок mTOR (центральный элемент клеточного сигнального пути PI3K-AKT-mTOR-S6/4EBP1, регулирующий процессы клеточного роста, пролиферации, ангиогенеза и внутриклеточного метаболизма). Использование таргетных препаратов, направленных против данных мишеней, позволило увеличить частоту объективных эффектов с 10% до 30%, а медиану времени до прогрессирования с 6 до 12 месяцев. В то же время, на современном этапе отсутствуют четкие клинические и молекулярно-генетические критерии, которые позволили бы достоверно прогнозировать эффективность определенного варианта таргетной терапии при ПКР. Идентификация биомаркеров, прогнозирующих чувствительность к тому или иному варианту таргетной терапии, позволила бы оптимизировать ее использование.

Цель исследования. Оптимизация таргетной терапии больных метастатическим ПКР (мПКР).

Материалы и методы. В исследование включены 43 больных мПКР, которые получали лекарственное лечение в отделении клинической фармакологии и химиотерапии ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» с образцами опухолевой ткани, доступной для проведения молекулярного исследования. Мы изучили уровень экспрессии мРНК потенциальных генов-мишеней (VEGFR1, VEGFR2, VEGFA, PDGFR α , PDGFR β , PI3K, AKT, mTOR, S6RP, PTEN, STAT3, EGFR, RAF1) в опухолевой ткани, а также оценили значение уровня экспрессии данных генов в прогнозировании эффективности ингибиторов VEGF/VEGFR и ингибиторов mTOR в качестве таргетной терапии первой и второй линии, соответственно. 43 больным анализ выполнен в ткани удаленной первичной опухоли и в ткани метастаза, 28 больным (65%) только в ткани первичной опухоли. 100% больных получали терапию ТКИ, 30% больных (n=13) получали терапию эверолимусом после прогрессирования на ТКИ. Уровень экспрессии мРНК генов оценивался методом ПЦР в реальном времени. При определении относительного количества мРНК исследуемого гена измеряли отношение уровня его экспрессии в опухолевом материале к уровню экспрессии в контроле (нормальная ткань почки). Исходя из полученных данных, опухолевые образцы были распределены в три группы: 1)

опухоли с низкой экспрессией (гипоэкспрессия) – отношение числа копий ДНК в опухолевой ткани к числу копий в контроле – менее 0,5; 2) опухоли с неизменной экспрессией (нормоэкспрессия) – от 0,5 до 1,5; 3) опухоли с высокой экспрессией (гиперэкспрессия) – более 1,5.

Результаты. Медиана ВДП для всей группы больных (n=43) на фоне терапии ингибиторами VEGFR в 1 линии составила 11 мес., в группе больных, получивших терапию ингибитором mTOR (эверолимус) после ингибиторов VEGFR (n=13) – 6 мес. Медиана ОВ для группы больных, получивших терапию ингибиторами VEGFR, не достигнута при медиане времени наблюдения – 21 мес.

При анализе взаимосвязи молекулярных нарушений с непосредственной эффективностью анти-VEGFR терапии была отмечена четкая прямая корреляция (p=0.05) между гиперэкспрессией мРНК VEGFR1 в ткани метастаза и сокращением размеров измеряемых опухолевых очагов на фоне терапии ТКИ. Гиперэкспрессия, нормоэкспрессия и гипоэкспрессия мРНК VEGFR1 в ткани отдаленных метастазов наблюдалась у 12 (43%), 11 (39%) и 5 (18%) из 28 больных, соответственно. Гиперэкспрессия мРНК mTOR в ткани первичной опухоли коррелировала с уменьшением размера метастазов на фоне терапии эверолимусом (p=0,008).

Гиперэкспрессия мРНК mTOR наблюдалась у 4 (31%) из 13 больных, и во всех случаях отмечалось сокращение (>10%) размеров измеряемых опухолевых очагов. При наличии гиперэкспрессии мРНК VEGFR1, VEGFR2, RAF1 в ткани первичной опухоли достоверно чаще (p<0,05) регистрировалось увеличение размеров метастазов на фоне терапии эверолимусом, что свидетельствовало о его неэффективности. При этом наличие гиперэкспрессии мРНК mTOR исключало гиперэкспрессию мРНК RAF1 в ткани первичной опухоли, т.е. данные молекулярные изменения являлись взаимоисключающими.

Гиперэкспрессия мРНК VEGFR2 в первичной опухоли (HR=1,72 (95%CI:0,9–3); p=0,05) и гиперэкспрессия мРНК RAF1 в ткани метастаза (HR=2,12 (95%CI:0,9–4); p=0,06) ассоциировались с повышением риска прогрессирования при проведении терапии ингибиторами VEGFR. При этом гиперэкспрессия мРНК VEGFR2 первичной опухоли наблюдалась у 17 (39,5%) и мРНК RAF1 в ткани метастаза у 8 (28%).

При анализе молекулярных нарушений в ткани первичной опухоли больных, получавших терапию эверолимусом, отмечалось достоверное снижение риска прогрессирования и увеличение ВДП при наличии гиперэкспрессии мРНК PI3K (HR=0,4 (95%CI:0,16–0,98); p=0,045). В результате однофакторного анализа среди всех оцененных молекулярных маркеров нами не было выявлено показателя, который оказывал бы значимое влияние на ОВ как в группе больных, получавших антиангиогенную терапию, так и в группе больных, получавших терапию ингибитором mTOR.

Выводы. Гиперэкспрессия мРНК RAF1 в ткани метастаза и, соответственно активация альтернативного сигнального пути (RAS-RAF-MAPK) в опухолевой клетке является фактором, который имеет негативное прогностическое значение при проведении таргетной терапии. Частота гиперэкспрессии мРНК RAF1 в ткани первичной опухоли составила 25% (11 из 43 больных) случаев, в ткани метастаза – 28% (8 из 28 больных). Вероятно, активация сигнального пути RAF-MAPK в опухолевых клетках является альтернативным самостоятельным «драйверным» механизмом развития опухоли у отдельных больных. Ни у одного больного с данным молекуляр-

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

ным нарушением мы не наблюдали объективных эффектов или сокращения размеров метастазов на фоне терапии ингибиторами VEGFR или ингибиторами mTOR.

Гиперэкспрессия mPNC VEGFR1 в ткани метастаза и гиперэкспрессия mPNC mTOR и/или PI3K может рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров, прогнозирующих эффективность терапии ингибиторами VEGFR и ингибиторами mTOR соответственно. Для валидации данных биомаркеров необходимо проведение более крупного проспективного клинического исследования.

NKG2D иммунорецептор и его лиганды в периферической крови больных меланомой и раком кишечника

Маризина Ю. В., Абакушина Е. В., Неприна Г. С., Пасова И. А.
Место работы: МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, Калужская область, г. Обнинск.

e-mail: julia_marizina@mail.ru

НК-клетки играют существенную роль в регуляции врожденного и адаптивного иммунного ответа за счет секреции цитокинов, ростовых факторов и хемокинов, а также способны быстро без предварительной иммунизации лизировать опухолевые клетки. Для обнаружения и характеристики НК-клеток, наиболее широко используют двух параметрический анализ экспрессии CD16+CD56+ на CD3-негативных лимфоцитах. Одним из активационных рецепторов, является антиген NKG2D (CD314), который экспрессируется на НК-клетках как белок, состоящий из двух идентичных полипептидных цепей. Его лиганды – антигены MICA и MICB (молекулы родственные MHC класса I) – это стресс-индуцированные молекулы, появляющиеся на поверхности опухолевых клеток при их трансформации и являются ранними маркерами для противоопухолевого иммунного ответа. Ускользая от иммунного надзора злокачественные клетки способны сбрасывать эти молекулы со своей поверхности. Растворимые формы молекул MICA (sMICA) могут быть обнаружены в сыворотке крови онкологических больных.

Цель исследования. Сравнить субпопуляционный состав НК-клеток и рецептора NKG2D на НК-клетках, а так же оценить уровень стресс-индуцированных молекул MICA в сыворотке крови у больных со злокачественными новообразованиями кишечника и меланомой.

Материалы и методы. С помощью проточного цитофлуориметра в работе оценен фенотип НК-клеток (CD16+56+3-) периферической крови и рецептор NKG2D (CD314) на всех лимфоцитах и на НК-клетках (CD314+CD16+) у 43 онкологических больных с колоректальным раком и 26 больных меланомой. Контрольную группу составляли 20 здоровых доноров. Для определения sMICA в сыворотке крови использовали иммуноферментный анализ.

Результаты. Больные были разделены на 3 группы, в зависимости от содержания sMICA: низкое от 0–1500 пг/мл (1 группа), среднее от 1500–4000 пг/мл (2 группа) и высокое более 4000 пг/мл (3 группа). В сыворотках крови здоровых доноров sMICA обнаруживался в минимальных количествах (менее 100 пг/мл). При меланоме среднее содержание sMICA составило 2436 пг/мл, 1 группу составили у 34,6% пациентов, вторую группу – 42,3%, а 3 группу – 23,1%. При раке

кишечника среднее содержание sMICA составило 790 пг/мл, 1 группу составили 90,7% пациентов, у 9,3% – составило более 4000 пг/мл (3 группа), группы со средним содержанием MICA не было выявлено. Было показано, что у всех онкологических больных по сравнению с группой контроля повышено содержание рецептора NKG2D на НК-клетках, что говорит об их активации. Отмечается увеличение числа НК-клеток у больных раком кишечника 1 группы, так же у них выявлено повышенное количество НК-клеток и содержание рецептора NKG2D на всех лимфоцитах.

Заключение. Показано, что количество sMICA в сыворотке крови больных возрастает в несколько раз, что может служить одним из ранних диагностических маркеров наличия онкологического заболевания. С повышением sMICA в сыворотке крови больных меланомой, в крови увеличивается количество НК-клеток, однако у больных раком кишечника обратная тенденция и содержание рецептора NKG2D и количество НК-клеток уменьшается с увеличением уровня sMICA, что, вероятно, свидетельствует о различном иммунопатогенезе данных заболеваний.

Роль BRAF T1799A мутации в патогенезе папиллярной микрокарциномы щитовидной железы

Маньковская С. В.

Место работы: Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси

e-mail: mankovskaya_svet@mail.ru

Цель исследования. Определить частоту распространения BRAF T1799A мутации в патогенезе папиллярной микрокарциномы (ПМК) щитовидной железы (ЩЖ) и ее связь с клинико-морфологическими характеристиками заболевания.

Материалы и методы. Проведен поиск активирующей мутации T1799A в гене BRAF в биопсийном материале 26 наблюдений морфологически верифицированной ПМК ЩЖ. Исследуемая группа включала 5 мужчин и 21 женщину, средний возраст которых составил 37±11 лет (от 19 до 53 лет). Всем пациентам до операции выполнялась тонкоигольная аспирационная биопсия под контролем ультразвукового сканера «Hitachi EUB-405» с линейным датчиком частотой 7,5 МГц. Полученный биоптат направлялся на цитологический анализ, а смывы из пункционной иглы использовали для выделения ДНК. Для проведения молекулярного тестирования получено добровольное информированное согласие пациентов.

Тотальную ДНК экстрагировали с помощью реагента TRIzol. Поиск онкогенов BRAF T1799A осуществляли методом специфической амплификации мутантного аллеля. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с двумя парами праймеров: одна из них (OPF: 5'–AGCCATGGTATGTACTGTGAATGCAA-3' и OPR: 5'–TCCGTGGGAAAATCAGTGACC-3') служила для детекции ДНК в ПЦР-продукте, а другая (BRAF mut Ex15F: 5'–GTGATTTTGGTCTAGCTACAGA-3' и BRAF Int15R: 5'–GATTTTGTGAATACTGGGAACATATGA-3') – для точечной мутации в 15 экзоне гена BRAF.

В реакционную смесь (конечный объем 25 мкл) добавляли 5 мкл раствора исследуемой ДНК (10–100 нг) и амплифицировали с использованием полимеразы AmpliTaq Gold («Applied Biosystems», США) при следующих условиях: 94 °C – 10 мин; 40 циклов 94 °C – 30 сек, 58 °C – 30 сек; 72 °C – 30 сек. Продукты ПЦР подвергались 30 мин электрофорезу в горизонтальных блоках 1,5% агарозы с последующим окрашиванием

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

бромистим етидием. Результати електрофоретического розділення фрагментів візуалізувалися при допомозі камери з ультрафіолетовою підсвіткою. Наявність активуючої мутації в гені BRAF в дослідному образці визначали по присутності в гелі фрагмента довжини 204 п.о.

Результати. Точкова мутація Т1799А в гені BRAF була знайдена в 15 (57,7%) з 26 випадків. Обнаружено, що ПМк при наявності в опухольових клітках BRAFT1799А мутації розвивалися в більш пізньому середньому віці (43,7 років) порівняно зі випадками з незмінним геном (32,5 років; $p=0,007$). Метастази в регіонарні лімфоузлы шийного регіону реєструвалися при BRAF-позитивних, ніж при BRAF-негативних ПМк (26,7% і 54,5% відповідно). В обох підгрупах кількість спостережень з багаточисельними осередками опухольового росту і з III – IV стадією захворювання суттєво не відрізнялися (при BRAF-позитивних раках – 13,3% і 20,0% відповідно, при BRAF-негативних – по 18,2%).

Крім того, не виявлено жодного випадку інвазії в власну капсулу вузла, в капсулу ЩЖ і виходом за її межі. Відзначимо також, що в порівнянні з BRAF-негативних ПМк, карциноми, несучі активуючу мутацію в гені BRAF, рідше виявлялися на фоні супутнього імунно-воспалительного процесу в ЩЖ (33,3% і 63,6% відповідно). Однак ці відмінності виявилися статистично незначущими.

Висновок. Обнаруженні дані демонструють, що BRAFT1799А мутація є частим молекулярним подією патогенезу ПМк щитовидної залози, але, по-видимому, цей онкоген не можна розглядати як потенційного маркера опухольової інвазії і метастазування. Разом з тим, отримані результати несуть ще попередній характер і потребують більш ретельної перевірки на більшій вибірці.

Новая герминальная миссенс-мутация в кодоне 886 протоонкогена RET у пациентки с медуллярной карциномой щитовидной железы

Амосенко Ф.А.^{1,2}, Ряднинская Н.В.¹, Поляков А.В.¹

Место работы: 1. ФГБНУ Медико-генетический научный центр, г. Москва; 2. ФГБНУ Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина, г. Москва

e-mail: amossenka@med-gen.ru

Введение. Медуллярная карцинома щитовидной железы – довольно редкое заболевание, составляющее 5–8% от всех тиреоидных раков. Для нее характерна высокая доля наследственных форм (20–40%), обусловленных герминальными активными точковыми мутациями протоонкогена RET. Эти мутации позволяют предсказать возраст начала заболевания, его клиническую агрессивность, а также проводить профилактическую тиреоидэктомию. Кроме того, согласно последним данным, чувствительность к ингибиторам киназы RET также определяется ее генотипом.

Пациенты. Больная 45-ти лет была прооперирована по поводу новообразования в щитовидной железе. При исследовании операционного материала обнаружен узел диаметром 16 мм. По гистологии – медуллярный рак. Уровень кальцитонина до операции – 400 пг/мл при норме 2–6 пг/мл, после операции – 0,46 пг/мл. Клинические и биохимические признаки поражения надпочечников и парашитовидных желез отсут-

ствуют. Родословная со слов больной не отягощена по эндокринным заболеваниям.

Цель работы. Для исключения возможности наследственной формы медуллярной карциномы щитовидной железы провели молекулярное исследование протоонкогена RET.

Материалы и методы. Геномную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови. Поиск мутаций проводили используя ПЦР амплификацию и прямое автоматическое секвенирование по Сэнгеру экзонів 5, 8, 10, 11, 13–16 гена RET.

Результаты. При анализе структуры гена RET в лимфоцитах периферической крови больной с медуллярной карциномой щитовидной железы мы обнаружили новую герминальную миссенс-мутацию с. 2657 G>A (p.R886Q) в гетерозиготном состоянии. Эта транзиция приводит к замене аргинина на глутамин (p.R886Q) во внутриклеточном тирозинкиназном домене белка RET. Поскольку ДНК родителей пробанда не была доступна для исследования, происхождение обнаруженной замены не известно. При исследовании гена RET с помощью мультиплексной лигазной реакции с последующей амплификацией (MLPA) у 100 здоровых доноров (проверено 200 аллелей) замена p.R886Q не была обнаружена.

Вывод. Очевидно, что описанная нами новая транзиция в гені RET ассоциирована с поздней манифестацией семейного медуллярного рака щитовидной железы. Но, степень ее патогенности пока не определена. Тем не менее новая замена p.R886Q вряд ли является нейтральной, поскольку она локализована в каталитическом домене тирозинкиназного домена, в непосредственной близости с высококонсервативной областью между тирозинкиназными субдоменами VI и VII, которые определяют субстратную специфичность и связывание АТФ с субстратом – связывающим карманом. Кроме того, по аналогии с известной в этом же кодоне мутацией p.R886W, патогенность которой была показана *in vitro*, также можно предположить, что мы нашли этиологическую мутацию.

Статус экспрессии генов OCT4, SOX2 и c-Myc при малигнизации тканей тела матки у пациенток Юга России

Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Моисеенко Т.И., Гудуева Е.Н., Никитин И.С., Франциянц Е.М.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Ежегодно во всем мире фиксируется более 300 тысяч новых случаев рака тела матки, что ставит данную патологию на одно из ведущих мест по распространенности среди других онкологических заболеваний у женщин (World Cancer Report, 2014). Известно, что опухолевые клетки характеризуются измененными сигнальными путями, обеспечивающими приобретение неограниченного потенциала к пролиферации (Zhu C. Q. et al., 2006).

Транскрипционные факторы, кодируемые генами OCT4 и SOX2, участвуют в регуляции работы человеческих эмбриональных стволовых клеток и поэтому могут играть важную роль в прогрессии развития опухолей. Ген OCT4 кодирует транскрипционный фактор, участвующий в самообновлении недифференцированных эмбриональных стволовых клеток и широко используется как маркер для недифференцированных клеток (Chen Z. et al., 2009).

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

SOX2 кодирует фактор транскрипции, который имеет большое значение для поддержания самообновления недифференцированных эмбриональных стволовых клеток, а его гиперэкспрессия активизирует миграцию опухолевых клеток. В эмбриональных стволовых клетках SOX2 контролирует экспрессию OCT4 (Jump up Masui S. et al., 2007). Транскрипционный фактор, кодируемый геном с-Мус, регулирует экспрессию до 15% всех генов, включая гены контролирующие репликацию ДНК (Gearhart J. et al., 2007).

Мутантные версии гена с-Мус обнаружены во многих опухолях (Chen Y. et al., 2014), при этом ген экспрессируется постоянно, что приводит к нарушению регуляции активности многих генов, в том числе, отвечающих за пролиферацию и дифференцировку клеток, а также самообновление стволовых клеток. Поэтому целью нашего исследования было изучение изменения относительной экспрессии генов OCT4, SOX2 и с-Мус в условно нормальных и малигнизированных тканях тела матки для поиска новых терапевтических подходов и потенциальных молекулярных маркеров, обеспечивающих раннюю диагностику и прогнозирование течения заболевания.

Материалы и методы. Клиническим материалом для исследования послужили ткани (опухолевые и условно здоровые) 27 пациенток Юга России в возрасте 33–75 лет с гистологически подтвержденным диагнозом рак тела матки, проходивших плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ в 2014–2015 годах. Определение относительной экспрессии генетических локусов OCT4, SOX2 и с-Мус проводили методом Real-Time qPCR (RT-qPCR). АКТВ locus использовали в качестве референтного для нормализации полученных показателей количественной RT-PCR.

Принцип метода заключается в одновременной амплификации генов-мишеней и референтного гена в опытной (опухолевая ткань) и контрольной (условно-здоровая ткань) пробах. Тотальную (суммарную) РНК из тканей выделяли методом гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции. После чего проводили обработку ДНК-азой 1. Перед проведением реакции обратной транскрипции для проверки качества выделенной РНК проводили электрофорез в 2% геле агарозы, содержащем 1xTBE буфер, по методу, описанному Masek T. et al. (2005).

Для синтеза кДНК использовали набор реагентов «РЕ-ВЕРТА-Л» («Интерлабсервис», Россия). Дизайн праймеров осуществлен с использованием референтных последовательностей ДНК NCBI GenBank. Количественная RT-PCR амплификация проводилась с использованием термоциклера Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA) в соответствии с инструкциями производителя. Статистический анализ выполняли с использованием прикладных пакетов программ Microsoft Excel 2013 и STATISTICA 8.0. Оценку различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0.05$.

Результаты. Учитывая возможную роль клеточной дифференцировки для степени экспрессии выбранных для исследования генов было проведено ранжирование имеющейся выборки больных по стадиям дифференцировки клеток опухолей G1, 2 и 3. У группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G1 в возрасте 45–68 лет обнаружено достоверное ($p < 0.05$) увеличение экспрессии гена SOX2 на 178%, у пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G2 в возрасте 38–69 лет не обнаружено достоверного изменения экспрессии исследуемых генетических локусов, а у пациенток с аде-

нокарциномой тела матки стадии G3 в возрасте 55–63 года обнаружено достоверное ($p < 0.05$) увеличение экспрессии генов SOX2 и с-Мус на 63% и 130% соответственно в опухолевой ткани по отношению к условно здоровой ткани матки. Также обнаружено статистически достоверное ($p < 0.005$) увеличение экспрессии генов OCT4, SOX2 и с-Мус в 32, 12 и 2 раза соответственно в опухолевых клетках на стадии G3 по отношению к экспрессии этих генов в опухолевых клетках на стадии G1, что наглядно свидетельствует о различиях в молекулярно-генетической картине экспрессии генов «стволовости» на разных стадиях дифференцировки клеток опухолей.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о важной роли генов OCT4, SOX2 и с-Мус в «озлокачествлении» опухолевых клеток тела матки, и возможности их использования в качестве дифференциальных маркеров прогрессии опухолевого процесса, а изменение относительной экспрессии гена SOX2 и в качестве предиктивного маркера малигнизации.

Литература.

1. International Agency for Research on Cancer (2014). World Cancer Report 2014. World Health Organization. Chapter 5.12. ISBN978–92–832–0429–9.
2. Zhu C. Q., Shih W., Ling C. H., Tsao M. S. Immunohistochemical markers of prognosis in non-small cell lung cancer: a review and proposal for a multiphase approach to marker evaluation. J. Clin. Pathol. 2006.59(8), 790–800.
3. Chen Z., Xu W. R., Qian H., Zhu W., Bu X. F., Wang S., Yan Y. M., Mao F., Gu H. B., Cao H. L., Xu X. J. Oct4, a novel marker for human gastric cancer. J Surg Oncol. 2009. 99(7), 414–419.
4. Jump up Masui S, Nakatake Y, Toyooka Y, Shimosato D, Yagi R, Takahashi K, Okochi H, Okuda A, Matoba R, Sharov AA, Ko MS, Niwa H \»Pluripotency governed by Sox2 via regulation of Oct3/4 expression in mouse embryonic stem cells\». Nat. Cell Biol. (2007). 9 (6): 625–35. doi:10.1038/ncb1589. PMID17515932.
5. J. Gearhart, E. E. Pashos, M. K. Prasad. Pluripotency Redux – Advances in Stem-Cell Research., N Engl J Med. 2007; 357:1469–1472.
6. Chen Y, McGee J, Chen X, Doman TN, Gong X, Zhang Y et al. “Identification of druggable cancer driver genes amplified across TCGA datasets”. PLoS ONE (2014). 9 (5): e98293.

Изменение экспрессии генов, ответственных за рецепцию и метаболизм эстрогенов, при малигнизации тканей тела матки

Водолажский Д. И., Кутилин Д. С., Моисеенко Т. И., Гудуева Е. Н., Никитин И. С., Франциянц Е. М.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. По данным ВОЗ в 2014 году во всем мире было зафиксировано около 320 тысяч новых случаев рака тела матки, что ставит данную патологию на шестое место по распространенности среди онкологических заболеваний у женщин в развитых странах (World Cancer Report, 2014). Ведущую роль в патогенезе данного заболевания играет гиперэстрогения эндогенного или экзогенного происхождения (American Cancer Society, cancer.org, 2015).

Эстрогены стимулируют пролиферацию клеток, индуцируя синтез факторов роста и их рецепторов, в том числе и эстроге-

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

новый рецептор α типа (ER α или ESR1) (Katzenellenbogen B. S., 2001.). Одним из важных элементов патогенеза гормонозависимого рака является образование эстрогенов из андрогенов. Эта реакция катализируется ферментом ароматазой (CYP19A1) (Salhab M, et al, 2006).

По данным Sasaki M. и соавторов (2003) метаболическая активация синтеза эстрадиола является ключевым фактором в канцерогенезе эндометрия. Важная роль в злокачественной трансформации различных органов, включая эндометрий, принадлежит гидрокси-производным эстрогенов, образующимся в результате катализируемого цитохромами CYP1A1 и CYP1B1 гидроксилирования эстрадиола в C-2 и C-4 положении соответственно.

Целью нашего исследования стало изучение изменения экспрессии генов, ответственных за рецепцию и метаболизм эстрогенов при малигнизации тканей тела матки для поиска предиктивных маркеров малигнизации.

Материалы и методы. Клиническим материалом для исследования послужили ткани (опухолевые и условно здоровые) 21 пациентки Юга России в возрасте 38–72 года с гистологически подтвержденным диагнозом рака тела матки, проходивших плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ. Определение относительной экспрессии генетических локусов CYP1A 1, CYP1A 2, CYP1B1, CYP19, ESR1, ESR2, GPER, STS, SULT1A1, SULT1E1 проводили методом Real-Time qPCR (RT-qPCR). ACTB локus использовали в качестве референтного для нормализации полученных показателей количественной RT-PCR.

Принцип метода заключается в одновременной амплификации генов-мишеней и референтного гена в опытной (опухолевая ткань) и контрольной (условно-здоровая ткань) пробах. Тотальную (суммарную) РНК из тканей выделяли методом гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции. После чего проводили обработку ДНК-азой 1. Перед проведением реакции обратной транскрипции для проверки качества выделенной РНК проводили электрофорез в 2% агарозном геле в TBE буфере по методу, описанному Masek T. et al. (2005).

Для синтеза кДНК использовали набор реагентов «РЕ-ВЕРТА-Л» («Интерлабсервис», Россия). Дизайн праймеров осуществлен с использованием референтных последовательностей ДНК NCBI GenBank. Количественная RT-PCR амплификация проводилась с использованием термоциклера Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA) в соответствии с инструкциями производителя. Статистический анализ выполняли с использованием прикладных пакетов программ Microsoft Excel 2013 и STATISTICA 8.0. Оценку различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0.05$.

Результаты. В ходе исследования в объединенной выборке без учета возраста и стадии дифференцировки опухолей нами обнаружено статистически достоверное увеличение экспрессии гена ESR1 на 124% ($p < 0.05$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки. Возраст пациенток варьировал от 38 до 72 лет. Достоверного изменения экспрессии других генетических локусов в объединенной выборке не обнаружено.

С учетом возрастных отличий, в группе пациенток до 55 лет обнаружено достоверное увеличение экспрессии гена SULT1E1 (эстроген сульфотрансфераза цитозольного типа) на 200% ($p < 0.005$), а в группе пациенток старше 55 лет обнаруживается достоверное повышение экспрессии гена ESR1 на

124% ($p < 0.005$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки.

После ранжирования по стадиям дифференцировки клеток опухолей на G 1, 2 и 3 группы были получены следующие результаты: у группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G1 обнаружено достоверное ($p < 0.005$) увеличение экспрессии генов в опухолевой ткани по сравнению условно нормальной CYP1A1 (на 1820%), CYP1A 2 (на 845%), CYP1B1 (на 420%), CYP19 (на 737%), ESR1 (на 198%), ESR2 (на 174%), GPER (на 54%), STS (на 746%), SULT1A1 (на 309%) и SULT1E1 (на 412%).

У группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии дифференцировки G2 отсутствовали достоверные различия в экспрессии исследованного паттерна генов опухолевой ткани по сравнению условно нормальной тканью. У группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G3 наблюдалось достоверное ($p < 0.005$) увеличение экспрессии генов CYP1A2 на 90%, CYP19A на 72%, ESR2 на 98%, GPER на 50%, STS на 130% и SULT1E1 на 110%.

Ранжирование выборки пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G2 ($n=14$) по возрастному критерию показало, что в группе пациенток до 55 лет наблюдается достоверное ($p < 0.05$) увеличение экспрессии генов CYP1A1, GPER, STS и SULT1E1 на 640%, 240%, 100% и 200% соответственно, а у пациенток старше 55 лет включительно наблюдается достоверное увеличение экспрессии только гена ESR1 на 110% ($p < 0.05$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки.

Заключение. Таким образом, транскрипционная активность генов в процессе малигнизации тканей тела матки имеет выраженный возраст – ассоциированный характер, а также зависит от степени дифференцировки клеток опухоли G. Важную роль в процессе малигнизации тканей матки играют гены ответственные за гидроксилирование эстрадиола в C-2 положении (CYP1A1), образование эстрогенов из андрогенов (CYP19), ответственные за регулирование уровня ядерных рецепторов эстрогенов (SULT1E1 – ген эстрогеновой сульфотрансферазы), ESR1 и 2 и мембранных рецепторов эстрогенов (GPER), а также ответственных за преобразование стероидов в их активную форму (ген стероидной сульфатазы, STS), что позволяет предложить их использование в качестве биомаркеров этого процесса.

Литература.

1. International Agency for Research on Cancer (2014). World Cancer Report 2014. World Health Organization. Chapter 5.12. ISBN978–92–832–0429–9.
2. American Cancer Society, cancer.org, 2015.
3. Katzenellenbogen B. S. Estrogen Receptors: Bioactivities and Interactions with Cell Signaling Pathways // Biol. Reproduction. 2001. Vol. 54. P. 287–293.
4. Salhab M, Reed MJ, Al Sarakbi W, Jiang WG, Mokbel K. The role of aromatase and 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 mRNA expression in predicting the clinical outcome of human breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2006. P. 155–62.
5. Sasaki M, Kaneuchi M, Fujimoto S, Tanaka Y, Dahiya R. CYP1B1 gene in endometrial cancer. Mol Cell Endocrinol. 2003. P. 171–6.

Факторы роста в опухолевой ткани базальноклеточного рака

Преждедцкий Ю. В., Франциянц Е. М., Комарова Е. Ф., Позднякова В. В., Шарай Е. А., Черяпина Н. Д.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Изучение уровня васкулоэндотелиального фактора роста и его рецептора, а также фактора роста фибробластов в опухолевых тканях первичного (различных клинических форм) и рецидивного базальноклеточного рака.

Материалы и методы. В 10% цитозольных фракциях тканей опухоли базальноклеточного рака кожи (БКР) солидного (n=20), язвенно-инфильтративного (n=16) и поверхностного вариантов (n=10), а также в ткани рецидивов (n=22) методом ИФА определяли экспрессию васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) и его рецептора (VEGFR1), а также фактора роста фибробластов (FGF). В качестве контроля использовали здоровую кожу, полученную при оперативном лечении пациентов без онкопатологии (n=20).

Результаты. В ткани первичных опухолей БКР содержание VEGF было повышено: при язвенно-инфильтративной форме – в 4,7 раза, при поверхностной – в 5,3 раза по сравнению с показателями в здоровой коже. При этом экспрессия VEGF в ткани солидной формы опухоли оставалась неизменной относительно контроля. В ткани рецидивной опухоли уровень VEGF был повышен в 6,7 раза относительно контроля.

Содержание sVEGFR1 увеличивалось неодинаково. Наибольшим повышением характеризовалась ткань опухоли язвенно-инфильтративного БКР – в 3,1 раза по сравнению с нормой. Экспрессия рецептора в первичных опухолях остальных изученных клинических форм БКР также увеличена: при солидной форме – в 1,5 раза, при поверхностной в 1,8 раза относительно нормальной кожи. В ткани рецидивов БКР этот показатель превышал норму в 2,2 раза.

Анализ коэффициента соотношения уровня VEGF и его рецептора обнаружил разнонаправленную динамику. Показано снижение коэффициента в опухолевой ткани при солидной форме БКР в 1,8 раза и, напротив, повышение показателя в 1,5 и 2,9 раза при язвенно-инфильтративной и поверхностной форме соответственно. В ткани рецидивных опухолей VEGF/sVEGFR1 был выше нормы в 3 раза.

Экспрессия FGF в ткани солидного, язвенно-инфильтративного и рецидивного БКР повышалась в 1,6; 1,7 и 1,3 раза соответственно, а в ткани поверхностной опухоли оставалась на уровне контрольных значений.

Заключение. В большинстве опухолевых тканей изученных форм БКР происходит выраженная экспрессия VEGF. Превалирование экспрессии VEGF в тканях базальноклеточного рака на фоне недостаточного связывания его рецептором VEGFR1 может косвенно свидетельствовать об активации сигнального пути VEGF через VEGFR2. При этом, только в случае язвенно-инфильтративных и рецидивных опухолей БКР экспрессия VEGF усилена повышенной продукцией FGF. Следует отметить, что в случае солидной формы БКР не происходит изменения содержания VEGF в опухолевой ткани, однако повышена выработка FGF, что позволяет предположить возможную активацию альтернативного сигнального каскада с ведущей ролью FGF.

Прогностическая роль цистатина С и L-FABP при развитии острого почечного повреждения почек у больных локализованным раком почки после резекции почки в условиях длительной тепловой ишемии

Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Швырев Д.А., Гончаров С.И., Алавердян И.А.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. Распространение современной тенденции в лечении локализованного рака почки на основе использования органосохраняющих операций, в первую очередь, резекции почки ограничивается повреждающим воздействием длительной тепловой ишемии (ТИП) на почечную ткань. При проведении резекции почки по поводу сложной локализации опухоли с использованием длительной ТИП очень важно сохранить функцию не только оперируемой почки, но и минимизировать возможное повреждающее влияние ишемии на реперфузии на функцию контралатеральной почки.

Целью настоящего исследования является идентификация биохимических факторов, являющихся прогностически важными индикаторами развития острого повреждения почек (ОПП) у больных раком почки, подвергнутых операции резекции почки в условиях тепловой ишемии.

Материалы и методы. Для участия в исследовании было отобрано 46 больных раком почки T1N0M0 и показателем R.E.N.A.L. в диапазоне 6–9 баллов (среднее значение показателя R.E.N.A.L. – $7,1 \pm 0,9$ баллов). Пациентам после введения их в наркоз выполняли уретеросцистоскопию и катетеризацию обоих мочеточников. К каждому катетеру фиксировали пробирку, используемую для раздельного взятия проб мочи из полостных систем обеих почек.

Пробы мочи от обеих почек забирали до выполнения разреза кожи в проекции оперируемой почки (после введения мочеточниковых катетеров). В моче методом иммуноферментного анализа (ИФА) определяли уровни содержания цистатина С (тест система Bio Vendor, Чехия) и L-FABP (тест-система Nycult biotech, Нидерланды). После завершения этапа катетеризации обоих мочеточников больного укладывали на бок для выполнения резекции почки, которую осуществляли лапароскопическим доступом в условиях ТИП. Средняя продолжительность ТИП составила $17,1 \pm 2,3$ минут (15–20 мин.). Пробы мочи от обеих почек забирали повторно через 20, 40 мин. от момента начала ТИП и через 1 сутки после операции для определения уровня содержания цистатина С и L-FABP. Затем катетеры удаляли. Критериями эффективности проведенного лечения считали отсутствие в раннем послеоперационном периоде осложнений, связанных с функцией почек – повышение содержания в сыворотке крови креатинина более чем на 50% от исходных значений. В зависимости от этого критерия все больные были ретроспективно распределены в две группы: 1 группа (32 человека) – больные без осложнений; 2 группа (14 человек) – больные с осложнениями в раннем послеоперационном периоде.

Статистическая обработка данных выполнена с применением пакета программ SPSS11.5 for Windows. Для оценки значимости различия показателей в группах предварительно определяли соответствие полученных выборок нормальному закону распределения. Использовали непараметрический критерий Манна–Уитни.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Результаты исследования. До начала ТИП уровень цистатина С был повышен у больных раком почки, что свидетельствовало о нарушении клубочковой фильтрации, причем в обеих почках. При этом имелись достоверные различия в уровне цистатина С в моче, оттекающей из пораженной злокачественным процессом почки в зависимости от развившихся в раннем послеоперационном периоде осложнений, связанных с функцией почек: уровень маркера у больных 2 группы был в 2,1 раза выше чем в аналогичном образце больных 1 группы.

Через 20 мин после полного восстановления кровотока в моче больных 1 группы уровень маркера увеличился: из резецированной почки – на 16,2% ($P < 0,05$), из контралатеральной – на 22,9% ($P < 0,05$). У больных 2 группы в указанный срок увеличение уровня маркера составило 23,2% и 39,4%, соответственно, относительно предыдущего срока исследования. Т.е. реперфузия почки способствовала нарастанию уровня цистатина С в моче больных обеих групп, причем это касалось как пораженной раком почки, так и контралатеральной.

Через 40 мин после полного восстановления кровотока в моче, оттекающей из резецированной почки больных обеих групп, отмечен подъем уровня показателя: у больных 1 группы – резкий в 5 раз, у больных 2 группы – достоверно значимый в 1,3 раза ($P < 0,05$). При этом в моче из контралатеральной почки больных обеих групп статистически значимых изменений уровня цистатина С обнаружено не было. Так как цистатин С является маркером нарушения экскреторной функции почек, мы склонны рассматривать этот факт как проявление санационных механизмов после восстановления кровотока в резецированной почке, а не как усугубление нарушения клубочковой фильтрации, так как уже через 1 сутки показатели изменились. Через 1 сутки в моче из резецированной и контралатеральной почек больных 1 группы уровень цистатина С был ниже исходных показателей в 1,5 раза ($P < 0,05$) и 3,5 раза соответственно. При этом в моче из контралатеральной почки содержание маркера не имело достоверных отличий от нормативных значений. В моче из резецированной и контралатеральной почек больных 1 группы в этот срок исследования уровень цистатина С снизился относительно предыдущего срока соответственно в 2,2 раза и 2,4 раза, и в контралатеральной почке достоверно не отличался от фоновых значений.

Установлено повышение в 3,1 раза и 2,6 раза соответственно содержания LFABP в моче, оттекающей от пораженной раком и контралатеральной почек больных 2 группы еще до начала ТИП. В динамике тепловой ишемии уровень маркера в моче, оттекающей из обеих почек больных 1 группы, достоверно не изменялся относительно фоновых величин. Через 20 мин после полного восстановления кровотока уровень LFABP в моче из почек больных 1 и 2 групп не имел достоверных изменений относительно предыдущего срока исследования и фоновых величин.

Через 40 мин после полного восстановления кровотока повышение содержания маркера относительно предыдущего срока исследования в моче больных обнаружено только из оперированной почки: в 1 группе – в 24,6 раза, во 2 группе – в 1,7 ($P < 0,05$) раза. Увеличение показателя в моче из контралатеральной почки больных обеих групп не найдено, напротив, у больных 1 группы уровень LFABP в моче из контралатеральной почки снизился в 1,6 ($P < 0,05$) раза.

Через 1 сутки после полного восстановления кровотока содержание LFABP в моче больных 1 группы резко снизилось относительно предыдущего срока исследования и было в по-

раженной почке выше нормативных показателей в 1,8 раза, а в контралатеральной почке – в 8,8 раза ниже. В этот срок в моче больных 2 группы уровень маркера оставался выше фоновых показателей в 3,8 раза и 2,1 раза соответственно в резецированной и контралатеральной почках.

Заключение. Полученные результаты позволяют полагать, что уровень цистатина С и LFABP адекватно отражают возможность развития осложнений после резекции почки, а высокая стабильность результатов и отсутствие интерференций позволяют использовать измерение указанных маркеров в качестве раннего биохимического теста для диагностики и мониторинга ОПП. Обращает особое внимание, что показатели маркеров в моче, оттекающей из контралатеральной почки, полностью отражают таковые в моче, оттекающей от пораженной и резецированной почки.

Комплексный анализ потенциальных биомаркеров у больных колоректальным раком

Кит О. И., Водолажский Д. И., Кутилин Д. С., Двадненко К. В., Тимошкина Н. Н., Енин Я. С., Максимов А. Ю., Геворкян Ю. А., Кожушко М. А., Петров Д.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. Разработка и внедрение биомаркеров для ранней диагностики онкологического процесса, определения тяжести болезни и/или предсказания её исхода в значительной мере повышает эффективность лечения онкозаболеваний.

Исследования молекулярных механизмов иницирования и развития колоректального рака (КРР) определили важную роль скрининга мутаций в онкогенах и генах-супрессорах, а также эпигенетических событий, включающих изменение статуса метилирования генов репарации ошибочно спаренных нуклеотидов (mismatch repair – MMR) (de Vogel et al., 2009). В современной литературе описаны два альтернативных непрерывающихся пути инициации и прогрессии КРР с участием эпигенетических механизмов подавления генов MMR. Один из них связан с мутациями в гене KRAS, возникающими вследствие гиперметилирования и последующей инактивацией гена MGMT.

Другая цепочка молекулярных событий практически исключает мутации гена KRAS и маркирована гиперметилированием промотора MLH1 гена и активирующей мутацией BRAF (de Vogel et al., 2009). Эпигенетические изменения регуляции экспрессии генов, влияющие в итоге на паттерн белковой экспрессии – ранние события в инициации спорадических случаев онкогенеза и его прогрессии.

Цель исследования. Поиск предиктивных маркеров малигнизации тканей толстого кишечника с помощью протеомных микрочипов в сочетании с определением мутаций в генах KRAS, BRAF и инактивирующим метилированием промотора гена MLH1.

Материалы и методы. В исследование были включены 20 пациентов Юга России, проходившие плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ (медиана возраста – 57 лет) с гистологически подтвержденной умеренно дифференцированной (G2) аденокарциномой ободочной и сигмовидной кишки. Из них у 11 пациентов была III стадия развития заболевания, у 9 – IV с отдаленными метастазами.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Для протеомного скрининга проводили экстракцию белков, маркировку и гибридизацию на слайде с использованием набора Panorama Antibody Microarray – Cell Signaling Kit (Sigma, США) по инструкции производителя. Слайды сканировали на сканере для микрочипов GenePix 4100A (Molecular Devices, США). Биоинформационный анализ данных по 224-м антителам к соответствующим белкам проводили с использованием программного обеспечения для анализа изображений GenePix™ Pro 6.0. Нормализацию проводили методами смены красителей и по референсным белкам.

Для молекулярно-генетических исследований ДНК экстрагировали из опухолевых и условно здоровых тканей, хранившихся при –1500С. Скрининг мутантного статуса гена KRAS осуществляли при помощи HRM-PCR. Тип мутаций во втором экзоне (G12C, G12S, G12R, G12V, G12D, G12A и G13D) уточняли в qRT-PCR с помощью набора «Real-Time-PCR-KRAS-7M» («Биолинк», Россия), в 3 и 4 экзонах – прямым секвенированием на AB3500 Genetic Analyzer (LT, USA). Мутацию V600E в гене BRAF идентифицировали с помощью набора «Real-Time-PCR-BRAF V600E» («Биолинк», Россия). Метилирование промотора гена MLH1 оценивали методом пиросеквенирования на PyroMark Q24 набором «PyroMark Q24 CpG MLH1» (Qiagen, Germany).

Результаты. В ходе анализа 224-ти протеомных маркеров в опухолевой и условно здоровой тканях 20-ти пациентов с KPP было обнаружено достоверное изменение экспрессии двух протеомных маркеров: Nerve Growth Factor Receptor (NGFR p75) и Microtubule-Associated Protein Tau (MAPT). Экспрессия данных белков в опухоли возрастала в 25% случаев по маркеру NGFR p75 и в 30% случаев по маркеру MAPT.

Подавление экспрессии маркеров в ткани опухоли наблюдалось у 5% пациентов по NGFR p75 и у 10% пациентов по MAPT без выраженной корреляции со стадией заболевания. В случаях одновременного изменения экспрессии двух белков, их уровень однонаправленно повышался. В случаях понижения экспрессии одного из указанных белковых маркеров уровень другого не отличался от экспрессии в условно здоровой ткани. Исследованная выборка характеризовалась 5 типами мутаций в гене KRAS, обнаруженных у 9 (45%) пациентов. Чаше встречалась мутация с.35G>A (G12D) – 5 случаев (55,6%); остальные мутации (с.34G>T (G12C); с.35G>T (G12V); с.38G>A (G13D) и с.183A>T (Q61H)) – по одному случаю (11,1%). Отметим идентификацию в небольшой выборке пациентов с KPP достаточно редкой активирующей мутацией Q61H (<1%; по данным COSMIC) в 3 экзоне KRAS, которую обнаружили с помощью прямого секвенирования после скрининга в HRM-PCR. Все идентифицированные мутации в гене KRAS сопровождалось изменением в опухоли уровня экспрессии белковых маркеров (NGFR и MAPT).

Мутация BRAF V600E не обнаружена в исследованной выборке, хотя по литературными данными её частота (8–15%) у пациентов со спорадическим KPP не относит BRAF V600E к редким событиям (de Vogel et al., 2009; Deng et al., 2004).

Использование метода пиросеквенирования позволило количественно оценить степень метилирования промоторного участка гена MLH1. Среднее значение метилирования составило 1,4% для условно здоровой ткани и 2,2% для опухоли. В одной из работ по количественному определению уровня метилирования промотора MLH1 указан пограничный предел гиперметилирования этого локуса – не менее 18% (Bettstetter et al., 2004). Поэтому, несмотря на достоверность различий

($p < 0.05$) между патологическим состоянием и нормой, обнаруженный уровень метилирования явно не достаточен для эффективного подавления экспрессии гена. Различия в метилировании промотора MLH1 у пациентов с разными стадиями заболевания были не достоверны.

Отсутствие мутаций BRAF V600E и гиперметилирования промотора MLH1 в исследованной группе пациентов, в том числе с активирующими мутациями KRAS, соответствует представлениям о различных молекулярных моделях онкогенеза при KPP. С другой стороны в нашем исследовании были обнаружены не описанные ранее ассоциации активирующих мутаций гена KRAS с изменением экспрессии белков NGFR p75 и MAPT. Оба протеомных маркера в большей степени охарактеризованы в отношении нервной ткани и нейродегенеративных состояний. Тем не менее, была показана связь некоторых видов рака с экспрессией рецептора NGFR p75 (Boiko et al., 2010), который в зависимости от эндо- и экзогенных факторов способствует или инициации апоптоза, или выживанию клетки посредством PI3K/AKT и/или NF-каппа В сигнальных путей.

MAPT – структурный пептид цитоскелета, не участвующий в сигнальной трансдукции клетки. Однако были описаны отклонения в экспрессии этого белка при малигнизации тканей, например, уровень MAPT предложено использовать как предиктивный маркер для оценки результатов химиотерапии у пациентов с метастазирующим раком груди (Zhou et al., 2015).

Заключение. Выявленные различия в экспрессии белков NGFR p75 и MAPT, а также метилировании промотора MLH1 в опухоли и условно здоровой ткани пациентов с KPP позволяет рассматривать использование этих показателей в качестве перспективных и независимых маркеров прогрессии колоректального рака.

Экспрессия про- и анти-апоптозных генов в тканях почек крыс через 48 часов после монолатеральной ишемии-реперфузии почки

Димитриади С. Н., Кум О. И., Водолажский Д. И., Кутилин Д. С., Тимошкина Н. Н., Гудуева Е. Н., Франциянц Е. М., Алавердян И. А.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель исследования. Развитие современной тенденции в лечении локализованного рака почки на основе использования органосохраняющих операций, в первую очередь, резекции почки ограничивается повреждающим воздействием длительной тепловой ишемии (ТИП) на почечную ткань.

При проведении резекции почки по поводу сложной локализации опухоли с использованием длительной ТИП очень важно сохранить функцию не только оперируемой почки, но и минимизировать возможное повреждающее влияние ишемии/реперфузии на функцию контрлатеральной почки. Целью данного исследования является расширение представлений о вызываемых моделированием односторонней ишемии/реперфузии молекулярных процессах в ткани обеих почек на основе изучения ассоциированных с апоптозом транскриптомных маркеров.

Материалы и методы. Для исследования использовали ткани левой и правой почек 42 белых лабораторных крыс-самцов.

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

Животні були розділені на дві групи, в обох групах використовувався золотий наркоз (30 мг/кг, внутримышечно). Вошедшим в контрольную группу животным проводилась «ложная» операция (лапаротомия, ушивание брюшной полости). Включённым в опытную группу животным после лапаротомии с целью моделирования ишемии/реперфузии на сосуды левой почки накладывали зажим на 20 мин. после чего кровотоки в почке восстанавливали путем снятия зажима. Через 48 часов после операции животных забивали методом декапитации. Определение относительной экспрессии 12 генетических локусов (MDM2, BAX, BCL2, p53, AIFM1, APAF1, CASP8, CASP3, CASP9, CASP7, CIAP1, XIAP, ICAD) проводили методом RT-qPCR. RT-qPCR амплификация проводилась на термодиклере Bio-Rad CFX96 (Bio-Rad, USA). В качестве референтного гена использовали АСТВ. Дизайн праймеров осуществлен с использованием референтных последовательностей ДНК NCBI GenBank. Тотальную РНК из тканей левой и правой почек выделяли методом гуанидин-тиоционат-фенол-хлороформной экстракции. После чего проводили обработку ДНК-азой 1.

Перед проведением реакции обратной транскрипции для проверки качества выделенной РНК проводили электрофорез в 2% геле агарозы, содержащем 1xTBE буфер, по методу, описанному Masek T. et al. (2005). Для синтеза кДНК использовали набор реагентов «РЕВЕРТА-Л» («Интерлабсервис», Россия). Принцип метода заключается в анализе сигналов амплификации генов-мишеней и референтного гена в исследуемых пробах. Статистический анализ выполняли с использованием прикладных пакетов программ Microsoft Excel 2013 и STATISTICA 8.0. Оценку различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни для порогового уровня статистической значимости $p < 0.05$.

Результаты. Через 48 часов после восстановления кровотока в левой почке крыс в результате проведенной ишемии/реперфузии, наблюдаются изменения транскрипционного профиля тканей как в левой, так и в правой почках относительно аналогичных показателей у контрольных животных. В левой почке крыс обнаружено достоверное ($p < 0.0005$) увеличение экспрессии про-апоптозных генов CASP8 в 5,5 раз, CASP7 в 2,3 раза, CASP9 в 2,2 раза, p53 в 14,6 раза, BAX в 6,6 раза, APAF1 в 12,7 раза, AIFM1 в 3,1 раза и анти-апоптозных генов MDM2 в 2,9 раза, CIAP1 в 4,9 раза, XIAP в 9,0 раз и ICAD в 8,8 раза по сравнению с контрольной группой.

При этом в правой почке крыс (не была подвержена ишемии/реперфузии) также обнаружено увеличение экспрессии про-апоптозных генов CASP8 в 10,3 раза, CASP7 в 3,3 раза, CASP9 в 2,7 раза, p53 в 18,9 раз, BAX в 6,4 раза, APAF1 в 9,3 раза, AIFM1 в 2,1 раза и анти-апоптозных генов MDM2 в 2,4 раза, CIAP1 в 2,2 раза, XIAP в 6,3 раза и ICAD в 6,4 раза по сравнению с контрольной группой.

Наблюдается активация генов как внешнего, так и митохондриального апоптозного пути, которая затрагивает ткани обеих почек. Причем в правой почке экспрессия про-апоптозных генов p53 и CASP8 превышает аналогичные показатели в левой почке на 30% и 87% соответственно, в то время как экспрессия анти-апоптозных генов в левой почке выше. Наиболее сильно увеличивается экспрессия генов p53, BAX, CASP8 и APAF1. Из генов, связанных с ингибированием апоптоза, наиболее сильно увеличивалась экспрессия XIAP и ICAD.

Также, согласно полученным данным, в соотношении транскрипционной активности таких пар генов как p53/MDM2

и BAX/BCL2 наблюдается дисбаланс с учетом контрольных показателей: p53/MDM2(левая почка) = 5, p53/MDM2(правая почка) = 8 и BAX/BCL2(левая почка) = 7, BAX/BCL2(правая почка) = 6. Это свидетельствует о ярко выраженной тенденции к многоуровневому преобладанию про-апоптозных процессов, как в левой (подвергавшейся непосредственному воздействию), так и в правой (интактной) почках крыс.

Заключение. В модельном эксперименте на крысах через 48 часов после монолатеральной ишемии-реперфузии левой почки обнаружена повышенная статистически достоверная транскрипция как про-апоптозных (CASP8, CASP7, CASP9, p53, BAX, APAF1, AIFM1), так и анти-апоптозных (MDM2, CIAP1, XIAP и ICAD) генов в тканях обеих почек. Это свидетельствует о вовлечении в патологический процесс контралатеральной почки при моделировании односторонней ишемии-реперфузии, что подтверждает тезис о системном воздействии на организм ишемии-реперфузии даже одной из почек, и о вероятности развития повреждения тканей в обеих почках. Важную роль в данном процессе играет баланс экспрессии про- и анти-апоптозных генов.

Литература:

1. Shah K. A., Shurey S., Green C. J. Apoptosis after intestinal ischemia-reperfusion injury: a morphological study. Transplantation, 1997; 64 (10): 1393–1397.
2. Osifchin N. E., Jiang D., Ohtani-Fujita N., Fujita T., Carroza M., Kim S.-J., Sakai T., Robbins P. O. // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 6383–6389.
3. Masek T., Vopalensky V., Suchomelova P., Pospisek M. Denaturing RNA electrophoresis in TAE agarose gels. // Anal Biochem. 2005–336(1)– P. 46–50.

Мутации в гене KRAS и внутриопухолевая гетерогенность в аденомах и раках прямой кишки ранних стадий

Поспехова Н. И., Шельгин Ю. А., Майновская О. А., Рыбаков Е. Г., Чернышов С. В., Кашиников В. Н., Фролов С. А., Шубин В. П.

Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр колопроктологии им. А. Н. Рыжих» Министерства здравоохранения России, г. Москва

e-mail: npospekhova@mail.ru

Цель. Целью работы являлось определение частоты соматических мутаций в гене KRAS, количественное определение мутантной копии гена и детекция внутриопухолевой гетерогенности в аденомах и раках прямой кишки ранних стадий.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили 30 образцов опухолей прямой кишки, полученных при выполнении операции методом трансанальной эндоскопической микрохирургии. Образцы опухолей подвергались стандартному гистологическому исследованию. Детекция соматических мутаций в гене KRAS в опухолях проводилась двумя методами: методом капиллярного секвенирования на приборе ABI PRISM 3500 («Applied Biosystems», США) – мутации в 2–4 экзонах гена, методом цифровой капельной ПЦР (цКП-ЦР) на приборе QX200 («Bio-Rad», США) – мутации p.G12D, p.G12V, p.G12S, p.G13D.

Результаты. Гистологическое исследование 30 удаленных препаратов диагностировало в 18 случаях villous или

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

тубуло-виллезную аденому прямой кишки с дисплазией эпителия Д2–Д3, в 5 случаях – карциному *in situ*, в 7 случаях – аденокарциному pT1–2. Капиллярное секвенирование выявило 22 KRAS-мутации в 21 опухоли (70%). Были обнаружены следующие мутации: p.G12D – 7 случаев, p.G12V – 6, p.G12C – 2, p.G12A – 1, p.G13D – 5, p.A146T – 1. В одном образце карциномы *in situ* было детектировано одновременно две мутации – p.G12D и p.G13D.

С помощью цкПЦП все мутации p.G12D, p.G12V, p.G13D (n=18) были подтверждены. При количественной оценке числа этих мутаций в опухоли содержание мутантного аллеля гена варьировало в пределах 32–90,6%. Выявлено четыре опухоли с преобладанием мутантного аллеля (59,6% p.13D, 70,9% p.13D, 83% p.12D и 90,6% p.12V). В этих случаях, вероятно, имеет место амплификация мутантного гена KRAS.

Кроме того, методом цкПЦП были обнаружены еще 4 мутации в гене KRAS, не детектируемые при капиллярном секвенировании из-за недостаточной чувствительности этого метода. В одном образце тубуло-виллезной аденомы выявлена мутация p.G12D с количеством мутантного аллеля 0,83%. В трех опухолях наряду с уже детектированной мутацией обнаружена вторая мутация в низкой концентрации: тубуло-виллезная аденома – p.G12V (39,5%) и p.G12D (1,1%); виллезная аденома – p.G12D (46,1%) и p.G12V (0,64%); аденокарцинома pT1 – p.G13D (47,5%) и p.G12D (1,15%). Таким образом, суммарно с применением двух методов обнаружено 26 мутаций в 22 (73,3%) из 30 образцов. Четыре опухоли (13,3%) несут две различные мутации в KRAS.

Заключение. Используя два метода детекции, мы показали высокую частоту соматических мутаций (73,3%) в гене KRAS в аденомах и раке прямой кишки ранних стадий. Часть аденом и аденокарцином прямой кишки имеют внутриопухолевую гетерогенность и состоят, по меньшей мере, из двух различных клеточных субклонов. В некоторых опухолях происходит амплификация мутантной копии гена KRAS.

Метод цкПЦП обладает значительно большей чувствительностью по сравнению с капиллярным секвенированием и позволяет обнаруживать соматические мутации, имеющиеся в небольшом количестве опухолевых клеток.

Мутационный статус – основа для таргетной терапии меланомы

Мазуренко Н.Н., Цыганова И.В., Лушникова А.А., Черемушкин Е.А.

Место работы: ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, г. Москва

e-mail: nmmazurenko@mail.ru

Актуальность. Меланома – наиболее опасное злокачественное заболевание кожи, которое отличается клинической и молекулярной гетерогенностью. Основная роль в патогенезе меланомы принадлежит MAPK-сигнальному пути, который гиперактивирован в 90% случаев меланомы. В зависимости от происхождения и опухолевого генотипа меланома подразделяется на субтипы, которые характеризуются специфическими мутациями в онкогенах BRAF, NRAS и KIT. Метастазирующая меланома прогностически крайне неблагоприятна и резистентна ко всем видам традиционной химиотерапии.

В последние годы улучшение результатов послеоперационного лечения метастатической меланомы стало возможно благодаря блокаде основных сигнальных путей, специфич-

ных для меланомы, с использованием ингибиторов, эффективных только у пациентов с определенным типом мутации (таргетная терапия). Представлялось важным изучить спектр мутаций онкогенов BRAF, NRAS и KIT в различных формах метастатической меланомы и определить чувствительность опухолей к препаратам таргетной терапии.

Материалы и методы. Исследовали опухолевую ДНК, полученную с помощью макродиссекции парафиновых срезов первичных опухолей или метастазов меланомы от 222 пациентов с меланомой кожи (199) или слизистых оболочек (23). Мутации определяли методом полугнездовой ПЦП с последующим секвенированием.

Результаты. В 199 случаях меланомы кожи выявлены мутации онкогенов BRAF (55,3%), NRAS (14,6%) и KIT (1,5%). Спектр мутаций различался в образцах меланомы в зависимости от локализации и подверженности ультрафиолетовому облучению (УФО). Мутации BRAF доминировали в меланоме кожи на закрытых (65,4%) для УФО поверхностях и значительно реже выявлялись в опухолях на открытых для УФО участках кожи (48,6%), а также в акрально-лентигиозной меланоме (16,6%).

В 23 случаях лентигиозной меланомы слизистых оболочек различной локализации мутации BRAF выявлены в 17,4%. Среди мутаций серин-треониновой киназы BRAF доминировали замены V600E (91,8%) и V600K (4,5%), чувствительные к ингибиторам BRAF: вемурафенибу или дабрафенибу. В 23 случаях лентигиозной меланомы слизистых оболочек различной локализации мутации BRAF выявлены в 17,4%. Среди мутаций серин-треониновой киназы BRAF доминировали замены V600E (91,8%) и V600K (4,5%), чувствительные к ингибиторам BRAF: вемурафенибу или дабрафенибу.

В отличие от BRAF частота мутации NRAS (замены Q61R/H/L или G12C) была выше в меланоме кожи на открытых (31,4%), чем на закрытых (9,6%) для УФО поверхностях (p=0,005), в акрально-лентигиозной меланоме (16,6%) и лентигиозной меланоме слизистых оболочек (13,0%). Меланомы с мутациями NRAS потенциально чувствительны к ингибиторам MEK (траметинибу, селуметинибу, MEK 162).

Мутации рецепторной тирозинкиназы KIT выявлены исключительно в 11 экзоне гена KIT только в меланоме на открытых для УФО участках кожи (5,7%) и меланоме слизистых оболочек (34,8%), и такие опухоли чувствительны к иматинибу и другим тирозинкиназным ингибиторам. Спектр мутаций в лентигиозной меланоме слизистых оболочек зависит от локализации опухоли: мутации KIT выявлены в 50% меланомы вульвы и 50% синоназальной меланомы, но отсутствовали в меланоме влагища, тонкой кишки и аноректальной области.

Мутации BRAF и NRAS выявлены в образцах меланомы влагища, слизистой полости носа и тонкой кишки. В трех случаях меланомы прямой кишки и анального канала мутации BRAF, NRAS и KIT не обнаружены. Полученные результаты использовались при назначении персонализированной таргетной терапии.

Выводы. Впервые у российских больных проведен комплексный анализ мутаций онкогенов в различных формах метастатической меланомы кожи и слизистых оболочек. Мутационный статус строго ассоциирован с анатомическим типом, локализацией меланомы и повреждением клеток ультрафиолетом. Определение мутаций онкогенов крайне важно для выбора тактики лечения больных различными вариантами меланомы.

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

Частота проявлення мутацій в гені EGFR в різних вікових групах пацієнтів Юга Росії

Водолажський Д. І., Гудуєва Е. Н., Двадненко К. В., Енін Я. С., Олейников Д. Д.

Место работы: ФГБУ Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, г. Ростов-на-Дону, Россия
e-mail: dvodolazhsky@gmail.com

Цель. По данным ВОЗ во всем мире в 2012 году от рака легких (наряду с раком трахеи и бронхов) умерли 1,6 миллиона (2,9%) человек по сравнению с 1,2 миллиона (2,2%) человек в 2000 году. Употребление табака является самой значительной отдельной предотвратимой причиной рака – более 20% смертей в мире от рака легких связаны с употреблением табака.

Самым эффективным средством терапии онкологических заболеваний на сегодняшний день является использование таргетных препаратов. Соматические мутации в гене EGFR у больных немелкоклеточным раком легкого определяют чувствительность или устойчивость клеток опухоли к таргетной терапии ингибиторами тирозинкиназы – гефитинибом (иресса) или эрлотинибом (тарцева).

Скрининг биоптатов немелкоклеточного рака легкого (NSCLC) существенно увеличивает эффективность применения таргетных препаратов и поэтому на сегодняшний день является неотъемлемой частью таргетной терапии онкологических заболеваний. Многочисленные исследования продемонстрировали неоднородность возникновения как количества, так и качества SNP-полиморфизмов в гене EGFR разных клинических, гендерных и возрастных групп пациентов.

Одним из основных факторов риска развития онкологических заболеваний является возраст, при этом заболеваемость раком легкого существенно увеличивается после 55 лет. Ежегодно в России заболевает раком легкого приблизительно 50 000 человек, из которых 54% погибает на первом году жизни после установления диагноза, а 65% – обращаются за медицинской помощью уже с запущенными стадиями развития онкологического заболевания.

В силу этого целью данного исследования служило изучение частот полиморфизмов 29 мутаций соматического происхождения в гене EGFR в парафиновых блоках (FFPE) опухолевых биоптатов в различных возрастных группах пациентов Юга России с диагнозом «аденокарцинома легкого».

Материалы и методы. В данное исследование были включены 435 пациентов больных аденокарциномой легкого, получавших стационарное лечение в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ. Проведен анализ возрастных отличий в частотах проявления мутаций в гене EGFR с учетом гендерных особенностей и статуса курения: мужчины – 278 человек (64%) и женщины – 157 человек (36%).

Пациенты были разбиты на возрастные группы по возрасту – младше 60 лет и старше, а так же по статусу курения. Для молекулярно-генетических исследований использовались FFPE блоки, содержащие не менее 20% опухолевой ткани. Экстракция ДНК проводилась после стандартной процедуры депарафинизации с использованием набора QIAamp® DNA FFPE Tissue Kit (QIAGEN, Германия). Детекцию 29 соматических мутаций в гене EGFR проводили с помощью набора реагентов «Therascreen EGFR RGQ PCR Kit» (QIAGEN, Германия) с использованием термоциклера Rotor-Gene Q (QIAGEN, Германия).

Статистический анализ проводили с использованием програм-

мы STATISTICA 7, в которой оценивали достоверность различий с использованием непараметрического критерия χ^2 , для общепринятого уровня статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты. Согласно полученным в нашем исследовании данным, мутации в гене EGFR были выявлены у 15% пациентов. При анализе данных с учетом возрастного и гендерного признаков было установлено, что в группе старше 60 лет у курящих мужчин частота встречаемости мутантного типа гена EGFR составляет 20,5%, что почти в 15 раз выше, чем в группе таких же больных с возрастом менее 60 лет – 1,4% ($\chi^2 = 13,87$; $p = 0,0002$). При исследовании группы старше 60 лет не курящих пациентов мужского пола было выявлено, что частота мутаций составила 35,4%, что почти в 8 раз больше, чем в группе моложе 60 лет не курящих пациентов мужского пола – 5,2% ($\chi^2 = 15,36$; $p = 0,0001$).

Противоположная картина наблюдается при анализе зависимости частоты мутаций в гене EGFR от возраста и статуса курения у женщин. В группе старше 60 лет курящих женщин частота мутаций составила 30%, при этом в аналогичной группе моложе 60 лет мутаций не было обнаружено ($\chi^2 = 0,80$; $p = 0,3711$). В группе у пациентов моложе 60 лет, не курящих женщин доля мутантного типа гена EGFR составила 50%, что на 10% больше, чем в группе старше 60 лет – 40,6% ($\chi^2 = 1,22$; $p = 0,2687$).

Заключение. В проведенном исследовании выявлены различия частоты проявления мутаций в гене EGFR в различных возрастных группах пациентов Юга России с учетом гендерных отличий и статуса курения. В ходе анализа установлено, что в группе моложе 60 лет у мужчин, которые никогда не курили, частота мутаций составила 5,2%, что в 7 раз меньше, чем в аналогичной группе пациентов старше 60 лет (35,4%).

При сравнении группы моложе 60 лет куривших мужчин доля мутантного типа составила 1,4%, что в 15 раз меньше, чем в группе курящих мужчин старше 60 лет – 20,5%. В рамках нашего исследования отличия в возрастных группах моложе и старше 60 лет курящих и не курящих мужчин статистически достоверны для уровня значимости $p < 0,05$.

Мутантный тип гена EGFR в группе курящих женщин моложе 60 лет не был обнаружен, при этом частота мутаций в аналогичной группе старше 60 лет составила 30%. В группе моложе 60 лет у не куривших женщин частота мутаций составила – 50%, что на 10% больше, чем в группе старше 60 лет у женщин которые так же не курили 40,6%. Данные отличия имели характер тенденции и не являлись статистически достоверными. Полученные данные выявили существенные различия частот проявления мутаций в гене EGFR у пациентов мужского пола 2 возрастных групп – моложе и старше 60 лет вне зависимости от статуса курения. Более высокая частота проявления мутаций обнаружена в гене EGFR в группе старше 60 лет как курящих, так и не курящих мужчин по сравнению с аналогичной группой моложе 60 лет. У женщин не зависимо от возраста и статуса курения наблюдались сходные тенденции в частоте проявления мутаций в гене EGFR.

Взаимосвязь между уровнем циркулирующих опухолевых клеток и параметрами иммунного статуса больных генерализованными формами рака легкого

Новикова И. А., Златник Е. Ю., Исаева Р. Г., Селютин О. Н., Шульгина О. Г., Матвеева Е. И., Бахтин А. В.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель исследования. Оценить взаимоотношение наличия и уровня циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) с некоторыми параметрами клеточного иммунитета у больных генерализованными формами рака легкого.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено 20 больным раком легкого (РЛ) IV стадией заболевания (Т 2–3 N2–3 M1) в возрасте от 52 до 75 лет. У 11 человек (55%) гистологический тип опухоли соответствовал немелкоклеточному раку (НМРЛ), у 9 (45%) – мелкоклеточному (МРЛ). Анализ образцов крови на наличие ЦОК осуществляли на системе CellSearch с использованием набора реагентов CELLSEARCH® CTC Kit. По количеству ЦОК больные были разделены на группы с низким количеством (до 10) ЦОК, со средним (от 11 до 100) ЦОК, и высоким (свыше 100) ЦОК.

Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов определяли на проточном цитометре BD FACSCantoII. Протоколы интерпретации данных включали определение основных субпопуляций лимфоцитов периферической крови, количества Т-регуляторных клеток (CD4+CD25+CD127dim), NKT-клеток, двойных негативных CD3+/CD4-/CD8- (DN) и двойных позитивных CD3+/CD4+/CD8+ (DP) Т-лимфоцитов, а также количества Т-хелперов (CD3+CD4+) и цитотоксических лимфоцитов (CTL, CD3+CD8+), экспрессирующих активационные маркеры (CD25, CD38, CD95, HLA-DR).

Результаты выражали в процентах от общего количества лимфоцитов, а для Т-регуляторных клеток в процентах от CD3+CD4+ клеток. Статистический и корреляционный анализ результатов исследования проводили с помощью программы STATISTICA 7.0 (StatSoftInc., США), статистически достоверные различия принимали при $p < 0,05$; при коэффициенте корреляции (r) от 0,91 до 1,00 теснота связь определялась как очень сильная, от 0,81 до 0,90 – весьма сильная, от 0,65 до 0,80 – сильная, от 0,45 до 0,64 – умеренная, от 0,25 до 0,44 – слабая, до 0,25 – очень слабая.

Результаты. ЦОК были выявлены у 16 из 20 больных раком легкого (80%) в количестве от 1 до 980 клеток в 7,5 мл крови, при НМРЛ у 10 из 11 (в 91%), при МРЛ у 6 из 9 человек (в 66,7%). Доля больных раком легкого с количеством ЦОК от 1 до 10 клеток составила 50% (8 из 16 больных), с уровнем ЦОК от 11 до 100 и свыше 100 клеток, по 25% (4 из 16 больных). При МРЛ количество ЦОК находилось в пределах от 1 до 980, тогда как при НМРЛ от 1 до 13 клеток.

Сравнение показателей клеточного иммунитета у больных РЛ при обнаружении у них различного количества ЦОК показало ряд статистически значимых различий. При высоком уровне ЦОК (свыше 100) отмечено достоверно более низкое процентное содержание CD3+CD4+ лимфоцитов по сравнению с показателями больных, у которых ЦОК были обнаружены в количествах до 100. Противоположные различия отмечены для CD3+CD8+CD38+, хотя по общей субпопуляции CD3+CD8+ лимфоцитов они не установлены. Уровень CD3+CD8+CD38+ лимфоцитов был статистически достоверно выше у больных с максимальным содержанием ЦОК по сравнению с остальными группами.

Обращают на себя внимание более низкие значения ряда показателей у больных со средними значениями уровней ЦОК, однако, статистически достоверные различия выявлены толь-

ко для В-лимфоцитов, относительное содержание которых было в 3 раза ниже, чем в остальных группах, а также для Т-regs, количество которых было в 2 раза ниже, чем у больных с высоким содержанием ЦОК. При этом у больных со средними уровнями ЦОК обнаружено более высокое содержание Т-лимфоцитов обеих основных субпопуляций с маркерами поздней активации CD3+CD4+HLA-DR+ и CD3+CD8+HLA-DR+, которое вследствие значительной индивидуальной вариативности определялось в виде тенденции.

При проведении корреляционного анализа наличия в крови больных ЦОК и исследованных иммунологических параметров выявлена сильная отрицательная корреляционная связь ($r = -0,87$) между присутствием в крови ЦОК и CD3+CD4+ клеток. Подобная закономерность наблюдается и для показателя соотношения CD4+/CD8+ ($r = -0,53$). Сильная положительная корреляция ($r = 0,78$) обнаружена между уровнем CD3+CD8+CD38+ лимфоцитов и наличием ЦОК. Уровень ЦОК демонстрирует сильную корреляционную связь с некоторыми минорными субпопуляциями лимфоцитов: CD3+CD4+CD25+ ($r = 0,74$) и CD3+CD4+CD8+ ($r = 0,67$), при этом показана умеренная корреляция с CD3+CD8+CD25+ ($r = 0,45$).

Заключение. Высокий уровень ЦОК характеризовался достоверно более низким относительным содержанием CD3+CD4+ лимфоцитов, а также достоверно высоким содержанием Treg и CD19+ лимфоцитов. Количество Treg клеток, с которыми, по современным представлениям, связана иммунодепрессия и прогрессирование опухоли, не продемонстрировали ни статистически достоверных различий, ни корреляций с наличием ЦОК, однако, выявленная положительная корреляционная связь последнего с долей лимфоцитов, экспрессирующих CD4+CD25+, позволяет предположить участие Tregs в процессе гематогенного метастазирования, тем более, что она выявлена на фоне отрицательной корреляции с общим количеством лимфоцитов Т-хелперно-индукторной субпопуляции (CD3+CD4+).

У больных с высокими значениями ЦОК выявленная положительная корреляция уровней DP (CD3+CD4+CD8+) лимфоцитов и ЦОК, по-видимому, связана с увеличением выброса незрелых клеток из тимуса, возможно, компенсаторным. Этим же можно объяснить и повышение уровня CD3+CD8+CD38+ клеток, однако, то обстоятельство, что подобные изменения не распространяются на лимфоциты с фенотипом CD3+CD4+CD38+, говорит о нарушении Т-хелперного звена еще на уровне посттимических предшественников. Полученные нами результаты о повышении содержания клеток этой субпопуляции на фоне высокого уровня ЦОК в целом соответствуют представлениям об их негативной роли при распространенных опухолевых процессах. Исследования, направленные на определение уровня ЦОК в сочетании с детальной оценкой иммунного статуса для расширения представлений о механизмах метастазирования, и как следствие, поиска подходов для их профилактики продолжаются.

Исследование полиморфизма генов ферментов метаболизма эстрогенов у женщин Новосибирской области с первично-множественными злокачественными опухолями

Савкова А.В.¹, Герасимов А.В.², Гуляева Л.Ф.^{1,3}, Красильников С.Э.²

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Место работы: 1. Новосибирский государственный университет (НГУ), медицинский факультет; 2. Новосибирский областной клинический онкологический диспансер (НОКОД); 3. Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики (НИИМББ)

e-mail: dr.gerasimov@yandex.ru, alivesav@gmail.com

Актуальность. Диагноз первично-множественные злокачественные опухоли (ПМЗН) имеют до 11,7% больных, состоящих на учёте по поводу злокачественного новообразования. В связи с успехами терапии опухолей и увеличением продолжительности жизни онкологических больных, а также увеличением заболеваемости злокачественными опухолями, заболеваемость ПМЗН неуклонно растёт.

До 75% опухолей в структуре ПМЗН у женщин являются эстроген-зависимыми. Особенности работы данных ферментов метаболизма эстрогенов у каждой пациентки создают индивидуальный баланс производства эстрогенов, а также продуктов их метаболизма разной степени токсичности. Поэтому выявление нарушений в метаболизме эстрогенов у данной группы онкологических больных позволит установить их роль в процессе канцерогенеза и разработать персонализированные подходы к лечению.

Материалы и методы. Для 31 пациентки НОКОДс ПМЗН и 168 клинически здоровых женщин был проведён анализ полиморфизма генов четырёх ключевых ферментов метаболизма эстрогенов: CYP1A1 (rs4646903, T→C), CYP1A2 (rs762551, C→A), CYP19 (rs700519, C→T), SULT1A1 (rs9282861, G→A) методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализа).

ДНК выделяли из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Для амплификации фрагментов генов, содержащих локус с выбранным полиморфизмом, были подобраны пары праймеров. Для статистической обработки результатов использовали отношение шансов (ОШ).

Результаты. Частота встречаемости исследуемых SNPs в генах CYP1A1 (ОШ = 1,03 ± 0,39 (ДИ 0,48–2,21)), CYP1A2 (ОШ = 1,33 ± 0,41 (ДИ 0,60–2,95)), CYP19 (ОШ = 1,59 ± 0,53 (ДИ 0,57–4,45)) у женщин с ПМЗН достоверно не отличается от таковой в группе контроля. Частота полиморфизма rs9282861 в гене SULT1A1 в группе с ПМЗН достоверно ниже таковой в группе контроля. Наличие SNPrs9282861 в гене SULT1A1 ведет к снижению активности фермента и ускорению его деградации (J. Xiao, 2014).

Выводы. Полиморфизм rs9282861 в гене SULT1A1 и снижение активности сульфотрансферазы является фактором защиты от ПМЗН у женщин.

Учитывая, что сульфотрансферазы не только переводят активные метаболиты эстрогенов в их растворимые неактивные формы, но и способны активировать многие экзогенные проканцерогены, можно предположить, что для женщин Новосибирской области при развитии ПМЗН немаловажен средовой компонент.

Патогенетические аспекты метастатического поражения печени

Каплиева И. В., Кит И., Франциянц Е. М., Тодоров С. С., Треница Л. К.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. Ежегодно в мире диагностируется более 10 миллионов больных первичными злокачественными новообразованиями. Метастазы в печень представляют собой наиболее частое и в большинстве случаев трудноизлечимое осложнение злокачественных заболеваний. Несмотря на усовершенствование уже имеющихся и внедрение новых методов диагностики, в 50–75% случаев эта патология выявляется поздно, когда больному помочь уже практически невозможно.

Цель. Создание новой экспериментальной модели метастатического поражения печени и изучение на её основе патогенеза этого процесса для последующей разработки новых способов профилактики метастазирования.

Материалы и методы. Эксперимент проводился на белых, беспородных крысах-самцах, весом 200–250 грамм в количестве 65 штук. Модель экспериментального метастазирования в печень воспроизводили по следующей схеме. Предварительно за 3–4 недели до перевивки саркомы 45 (С-45), под кожу живота выводили селезенку. Затем, путём интралиенальной инъекции, помещали опухолевые клетки в орган (0,1 мл взвеси С-45 в физиологическом растворе в разведении 1×10⁶), где впоследствии развивался первичный опухолевый узел, метастазирующий в печень.

Результаты. Через 3 недели после интралиенального введения взвеси С-45 мы регистрировали рост опухоли в селезенке и метастатическое поражение печени. Через 45–60 дней после внутриселезеночной перевивки С-45 у некоторых животных появилось желтушное окрашивание кожных покровов и слизистых оболочек, повысился билирубин в крови. После вскрытия крыс обнаруживался первичный опухолевый узел в селезенке, размером от 9,75 см³ до 16,2 см³. Селезенка утрачивала строение органа, ее ткань была представлена лишь единичными небольшими островками на поверхности опухолевого узла. В печени визуализировался, как правило, 1–2 фокусный рост опухоли размером 18,71–34,56 см³.

На поверхности измененной ткани органа находились единичные кисты заполненные желчью. Полученные метастазы злокачественной опухоли печени являлись морфологически подтвержденной круглоклеточной саркомой, воспроизводились в 95% случаев, росли и приводили к гибели животных. Метастазы в печени, на наш взгляд, обладали гистологическими признаками большей «опухолевой агрессии», чем первичная опухоль.

Данный метод воспроизведения метастазов в печени исключает влияние стрессорных факторов (оперативное вмешательство, общий наркоз) в момент перевивки опухоли, что приближает процесс экспериментального метастазирования к естественному; дает возможность визуально контролировать рост первичной опухоли; полученные метастазы в печени при интралиенальном введении опухолевой взвеси С-45 являются истинно гематогенными метастазами (занос опухолевых клеток через нижнюю полую вену – наиболее значимый путь метастазирования).

Также данный метод предполагает использование нелинейных животных, поскольку перевитая в селезенку опухоль приводит к постепенному разрушению органа, а, следовательно, и к нарушению иммунной противоопухолевой защиты.

В плане исследования тех или иных звеньев патогенеза метастазирования нас интересовали сроки, предшествующие появлению первичного опухолевого узла в селезенке и метастазов в печени. Были выбраны следующие «точки» исследования: через 1 и 2 недели после введения взвеси С-45 в селезенку

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

(ранние сроки, предшествующие «выходу» опухоли в селезенку) и через 5 недель – срок предположительного визуального появления метастазов в печени.

С помощью наборов для иммуноферментного или радиоизотопного анализа определяли: 1. В сыворотке крови – связующем звене всего организма, стероидные и тиреоидные гормоны: адренокортикотропный гормон (АКТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), тиреотропный гормон (ТТГ), пролактин, прогестерон, свободные формы трийодтиронина (Т₃св) и тироксина (Т₄св), антитела к ТРО, общий и свободный тестостерон, эстрон, эстрадиол, кортизол, дегидроэпиандростерон (ДГЭА); в ткани печени: инсулиноподобный фактор роста I и II (IGF-I, IGF-II), эпидермальный фактор роста и рецептор к нему (EGF, EGF-R), трансформирующий фактор β 1 (TGF- β 1), сосудистый эндотелиальный фактор роста и рецептор к нему (VEGF-A и VEGF-R1).

Результаты исследований. У крыс с метастатическим поражением печени в сыворотке крови увеличивались концентрации: пролактина – в 2 раза, ЛГ – в 2,3 раза, кортизола – в 3 раза, ДГЭА – в 2,7 раза, ТТГ – в 3,3 раза и антител к ТРО – в 1,5 раза, и уменьшались концентрации: ФСГ – в 3,4 раза, эстрогена – в 5,9 раза и эстрадиола – в 1,5 раза.

В ткани печени увеличивались уровни TGF- β 1 и VEGF-A через 1 неделю метастазирования соответственно – в 2,9 и 2,4 раза, через 5 недель – в 5,3 и 4,3 раз. Содержание VEGF-R1 возрастало через 2 недели в 1,5 раза, через 5 недель – снижалось в 1,6 раза. Концентрации EGF, EGF-R1 и IGF-I увеличивались со 2 недели метастазирования соответственно в 1,9; 1,4 и 1,6 раз.

У IGF-I, IGF-II, TGF- β 1 при метастазировании в печень общее количество сильных корреляций с гормонами в сыворотке крови становилось в 2 раза меньше, чем при росте первичной опухоли. На первый план выходил IGF-I, который имел 7 сильных связей, из них положительные – с АКТГ (0.91), ДГЭА (0.80), эстрадиолом (0.96), пролактином (0.95), ТТГ (0.91) и Т₄св (0.76); отрицательные – с эстроном (-0.90). Два других фактора имели по 2 сильные связи: IGF-II – положительные с кортизолом (0.88) и с ФСГ (0.90), TGF- β 1 – отрицательные с кортизолом (-0.79) и тестостероном (-0.92). Причем, у TGF- β 1 корреляции в основном – отрицательные средней силы, у IGF-II – слабые.

Заключение. Патогенетическими аспектами метастазирования в печень являются:

I. Особенности гормонального обмена: 1. Развитие латентного гипотиреоза, возникающего вследствие аутоиммунного тиреоидита. 2. Увеличение уровня лютеинизирующего гормона и пролактина на фоне уменьшения ФСГ, эстрадиола и эстрогена. 3. Активация надпочечников с равнозначным ростом в сыворотке крови концентрации как стресс-реализующего гормона – кортизола, так и его антагониста – ДГЭА.

II. Особенности динамики ростовых факторов: 1. Постепенно нарастающее увеличение концентрации TGF- β 1 и VEGF-A в печени с 1 по 5 неделю метастазирования и увеличение концентрации VEGF-R1 – через 2 недели канцерогенеза с восстановлением его уровня – через 5 недель, свидетельствующее об усилении процессов неоангиогенеза и пролиферации в печени; 2. Увеличение уровня IGF-I и всех компонентов системы EGF/EGF-R1 в печени со 2 недели канцерогенеза, отвечающих за процессы метастазирования. III. Особенности межсистемных взаимоотношений:

1. Метастазирование в печень сопровождается развитием более сложной разбалансированной системы гормональных влияний на рост опухоли, что свидетельствует о модификации гормональной регуляции процессов метастазирования, сочетающейся с экспрессией IGF-I и TGF- β 1 в печени.

Роль факторов неоангио- и неоплазматогенеза в реализации эффекта при терапии цетуксимабом плоскоклеточного рака головы и шеи

Владимирова Л. Ю., Франциянц Е. М., Азиева А. А., Енгибарян М. А., Пустовая И. В., Черярина Н. Д., Погорелова Ю. А.
Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Цель. Изучить соотношение факторов неоангиогенеза в крови и ткани опухоли в зависимости от клинического эффекта применения цетуксимаба.

Материалы и методы. В исследование включали пациентов с первичным местнораспространенным верифицированным плоскоклеточным раком головы и шеи, Т3–4, N0–1, M0, ECOG ≤ 1 , при нормальной функции печени, почек и костного мозга, отсутствие данных за отдаленные метастазы. В исследование были включены 27 пациентов (77,7% (21) мужчин и 22,3% (6) женщин, средний возраст 57,5 \pm 1,7 лет. Цетуксимаб вводили в дозировке 400 мг/м² в 1 день и 250 мг/м² еженедельно в сочетании с химиотерапией: Цисплатин 100 мг/м² в 1 день, Фторурацил 1000 мг/м² 96-часовая непрерывная инфузия с 1–4 дни 21-дневного цикла. В крови, ткани опухоли, ее перифокальной зоне, полученной путем трепанбиопсии после химиотерапии цетуксимаба были исследованы EGF, EGFR, VEGFA, VEGFR1, VEGFD, TGF методом иммуноферментного анализа. В качестве контроля изучены кровь и ткань больных без лечения цетуксимабом.

Результаты. При достижении клинического эффекта у пациентов в ткани опухоли отмечалось снижение уровня EGFR на 40,8%, EGF-на 22,6%, VEGFR1- на 41,6%, TGF-на 28% по сравнению с контрольной (p < 0,05) и 4,6-кратное снижение VEGFA (p < 0,05). Изменения в EGF, EGFR, VEGFA, VEGFR1, TGF в тканях вокруг опухоли были похожи, но более выражены. В крови этих больных после лечения уровень EGFR увеличился в 1,7 раза, а TGF, напротив, снижился в 1,4 раза при неизменном уровне остальных показателей (p < 0,05)

При отсутствии клинического эффекта у пациентов в ткани опухоли отмечалось увеличение уровня EGF на 26,6%, VEGFR1 – на 44,2% и 4,5-кратное снижение VEGFD (p < 0,05). Изменения уровня EGF, VEGFA, VEGFR1, TGF в тканях, окружающих опухоль, были разнонаправлены с показателями в опухоли и только EGFR и VEGFD изменялись в том же направлении. В крови этих больных уровень EGFR после лечения увеличился в 1,5 раза, уровень EGF, VEGFA, TGF, напротив, снижались в 3 раза, 1,5 раза и 2,1 раза соответственно. Содержание VEGFR1 и VEGFD не изменялось.

Заключение. Исследование факторов неоангио- и неоплазматогенеза выявило дезрегуляцию сигнальной трансдукции на уровне тканей, окружающих злокачественную опухоль, что возможно является одной из причин, приводящих к неэффективности терапии цетуксимабом.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Отдаленные результаты лечения пациентов с папиллярным раком щитовидной железы при использовании дооперационной молекулярно-генетической панели

Семенов Д. Ю.¹, Борискова М. Е.¹, Фарафонова У. В.¹, Колоскова Л. Е.², Зинкевич И. Т.², Кочнева О. Л.², Быков М. А.¹, Панкова П. А.¹, Волчков Г. В.¹, Смолина Е. Н.¹

Место работы: 1. Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования; 2. «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация.

e-mail: boriskovam@gmail.com

Одной из актуальных проблем современной тиреоидологии является улучшение результатов лечения больных с папиллярным раком щитовидной железы путем решения вопроса об адекватном объеме оперативного лечения и уменьшения количества рецидивов и связанных с этим повторных оперативных вмешательств. Не смотря на значительное количество исследований, посвященных дооперационным прогностическим критериям риска рецидива заболевания, данный вопрос требует дальнейших исследований.

В связи с этим основной целью нашей работы явился сравнительный анализ результатов лечения пациентов с папиллярным раком щитовидной железы, оперированных с использованием принятых стандартов, и с включением в дооперационный алгоритм молекулярно-прогностической панели.

Материалы и методы. В ходе выполнения нашего исследования проанализированы результаты лечения 91 пациента с папиллярным раком щитовидной железы, прооперированных на базе кафедры общей хирургии в период с 2008 по 2013 гг. На дооперационном этапе нами было выполнено молекулярно-генетическое исследование на наличие в материале пункционной биопсии мутации V600E гена BRAF и определение уровня экспрессии натрий-йодного симпортера (НИС) методом проточной цитофлюориметрии. Для выявления мутации T1799A (Val 600 Gln) в гене BRAF использовался метод аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией продуктов амплификации в полиакриламидном геле. Экспрессия NIS определялась методом проточной цитофлюориметрией на проточном цитометре Epics XL – MCL (Beckman Coulter) в материале ТАБ. Все пациенты были разделены на 2 группы: в первую группу вошли 48 пациентов, решение об объеме оперативного вмешательства которых принималось на основании принятых в России согласительных документов; во вторую группу вошли 43 пациента, при принятии решения об объеме оперативного вмешательства которых помимо общепризнанных факторов неблагоприятного прогноза, оценивались молекулярно-прогностические маркеры BRAF и НИС. При выявлении мутации гена BRAF и снижении уровня экспрессии менее 1% в материале ТАБ, больным второй группы выполнялась тиреоидэктомия с центральной лимфодиссекцией. Все пациенты были оперированы, медиана наблюдения за пациентами составила 60 месяцев. Окончательная верификация диагноза проводилась по данным гистологического исследования. **Результаты.** Среди 91 пациента с установленным по данным гистологического исследования диагнозом – папиллярный рак ЩЖ BRAF-мутация была выявлена с частотой 51.6% (47 пациентов из 91). При наблюдении в срок до 60 месяцев частота рецидивирования BRAF положительных опухолей со-

ставила 41% (10 пациентов). Интересным является тот факт, что BRAF мутация в нашем проспективном исследовании не влияет на развитие рецидива заболевания ($p = 0.07$).

Однако при многомерном анализе и использовании критерия однородности кривых дожития Каплан-Майер выявлено, что BRAF статус опухоли влияет на развитие рецидива во взаимосвязи с объемом выполненного оперативного вмешательства. Так, были получены следующие результаты, при выполнении в случае BRAF позитивного статуса только тиреоидэктомии, рецидив заболевания развился в 42% случаев (у 3 пациентов из 7); при дополнении этого же объема центральной лимфодиссекцией количество рецидивов снижается до 6% (у 2 пациентов из 31) ($p = 0.002$).

В группе же BRAF отрицательных опухолей объем операции не влияет на риск развития рецидива. Т.е. во 2ой группе больных в связи с расширением объема хирургического лечения удалось снизить количество рецидивов в группе BRAF положительных опухолей с 42% до 6%.

При анализе зависимости положительного BRAF статуса опухоли и таких признаков агрессивности течения высокодифференцированного рака щитовидной железы, как мультицентричность, наличие метастазов в регионарные лимфатические узлы получены следующие данные. При наличии мутации гена BRAF достоверно чаще можно выявить наличие мультицентричности ($p = 0.0055$) и метастазы в локорегионарные лимфатические узлы ($p < 0.001$).

Статистически значимой корреляции между наличием мутации гена BRAF и уровнем экспрессии НИС в нашем исследовании не получено ($p = 0.6$). При использовании регрессионной модели Кокса выявлены ведущие факторы, влияющие на развитие рецидива заболевания. К ним относится общепризнанный критерий неблагоприятного прогноза – размер первичной опухоли (Т-стадия) ($p = 0.017$), и уровень экспрессии НИС менее 1% ($p < 0.0001$). При проспективном анализе влияния уровня экспрессии НИС на безрецидивную выживаемость в группе больных с уровнем экспрессии НИС более 1% рецидив заболевания развился лишь в 10% случаев, тогда как в группе больных с уровнем экспрессии НИС менее 1% частота рецидивов достигла 50%.

Заключение. Таким образом, в группу высокого риска должны дополнительно быть включены пациенты с положительным BRAF статусом опухоли и снижением уровня экспрессии НИС менее 1%. В случае BRAF положительной опухоли необходимо расширять показания к выполнению профилактической центральной лимфодиссекции.

Влияние окислительной модификации белков на распределение опухолевых клеток линии MCF-7 по фазам клеточного цикла при модуляции редокс-статуса

Шахристова Е. В.¹, Степовая Е. А.¹, Носарева О. Л.¹, Чильчи-гашев Р. И.¹, Рязанцева Н. В.^{2,3}

Место работы: 1. ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск; 2. ФГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет, г. Красноярск; 3. ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

e-mail: shaxristova@yandex.ru

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

В настоящее время большое внимание исследователей уделяется молекулярным механизмам нарушений функций клеточных систем при патологиях, связанных с развитием окислительного стресса, сопровождающегося изменением редокс-статуса, дисрегуляцией пролиферации и апоптоза. Опухоли молочной железы занимают первое место в структуре онкологической заболеваемости среди женщин в мире, в том числе и в России.

Цель исследования. Изучение уровня окислительной модификации белков и распределения по фазам клеточного цикла культуры аденокарциномы молочной железы линии MCF-7 при модуляции редокс-статуса клеток блокаторм SH-групп N-этилмалеимидом и протектором тиоловых групп 1,4-дителиозитритолом.

Материалы и методы. Исследования проводили на культуре клеток линии MCF-7 (эпителиоподобная аденокарцинома молочной железы человека), полученной из Российской коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Опухолевые клетки культивировали адгезионным методом в полной питательной среде, содержащей 90% EMEM, 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 1% заменимых аминокислот, 10 мкг/мл бычьего инсулина 0,3 мг/мл L-глутамин и 100 мкг/мл гентамицина. Клетки аденокарциномы молочной железы культивировали в течение 18 ч при 37 °C и 5% CO₂ в присутствии N-этилмалеимида (NEM, необратимо связывает SH-группы белков) в конечной концентрации 5 мМ, или 1,4-дителиозитритолом (DTE, протектор SH-групп протеинов и пептидов), в конечной концентрации 5 мМ.

Состояние глутатион-зависимой системы антиоксидантной защиты в клетках линии MCF-7 оценивали по содержанию общего, восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона, определяемых методом, основанном на способности GSH взаимодействовать с 5,5-дителиобис-2-нитробензойной кислотой с образованием тионитрофенольного аниона, имеющего характерный максимум поглощения при длине волны 412 нм. Для определения GSSG пробы предварительно инкубировали с блокаторм SH-групп – 2-винилпиридином. Поскольку, величина отношения GSH/GSSG в полной мере отражает состояние редокс-статуса клеток, в результатах исследования мы приводим только этот показатель.

Интенсивность окислительной модификации протеинов оценивали по содержанию карбонильных производных белков методом, основанным на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, которые регистрировали спектрофотометрически. Оценку распределения опухолевых клеток по фазам клеточного цикла проводили методом проточной цитофлуориметрии по протоколу Cycle Test Plus. Результаты выражали в виде медианы (Me) и квартилей (Q1-Q3). Достоверность различий выборки оценивали непараметрическими критериями Краскала-Уолиса и Манна-Уитни при уровне значимости $p < 0,01$.

Результаты. Культивирование клеток линии MCF-7 в присутствии NEM или DTE способствовало изменению редокс-статуса клеток и уровня окислительной модификации белков. Так, нами было установлено, что культивирование опухолевых клеток с NEM приводило к снижению в 2,2 раза ($p < 0,01$) величины отношения GSH/GSSG по сравнению с интактной культурой (9,71 (9,55–9,73) у.е.), что может способствовать активации свободно-радикального окисления. Добавление в культуральную среду клеток линии MCF-7 NEM приводило

к повышению уровня окислительной модификации протеинов – карбонильных производных белков.

При длине волны 274 нм регистрируются альдегидфенилгидразоны – ранние маркеры окислительной деструкции белков, при 363 нм – кетондинитрофенилгидразоны, являющиеся маркерами поздней деструкции белковых молекул. На фоне добавления NEM в культуральную среду опухолевых клеток выявлено увеличение содержания карбонильных производных при длинах волн 274 нм в 4,5 раза ($p < 0,01$) и 363 нм – в 4,9 раза ($p < 0,01$) в условиях спонтанного окисления протеинов по сравнению с уровнем окислительной модификации белков в интактных клетках, составившим 4,52 (3,26–7,34) и 5,48 (5,01–6,28) у.е./мг белка, соответственно.

При металл-катализируемом окислении белковых молекул в условиях блокирования SH-групп протеинов и пептидов в клетках линии MCF-7 нами установлено увеличение содержания карбонильных производных при длинах волн 274 нм и 363 нм в 1,8 раза ($p < 0,01$) по сравнению с аналогичными значениями показателя в интактной культуре, составившими 16,34 (15,27–19,38) и 20,22 (20,09–20,84) у.е./мг белка, соответственно.

В результате протекторного действия DTE на SH-группы белков и пептидов в клетках линии MCF-7 редокс-статус смещался в сторону восстановленной формы глутатиона и величина отношения GSH/GSSG составила 10,65 (10,26–12,48) у.е. Культивирование клеток аденокарциномы молочной железы в присутствии DTE приводило также к выраженному протекторному влиянию соединения на процессы окислительной модификации протеинов, что выражалось в снижении уровня карбонильных производных белков при спонтанном окислении в 1,8 раза ($p < 0,01$), регистрируемых при длине волны 274 нм, и в 1,7 раза ($p < 0,01$) – при 363 нм.

При исследовании металл-катализируемого окисления белков в клетках линии MCF-7, культивируемых в присутствии протектора SH-групп протеинов и пептидов, нами установлено уменьшение концентрации карбонильных производных при длинах волн 274 нм и 363 нм в 1,6 раза ($p < 0,01$) и 1,8 раза ($p < 0,01$) соответственно, по сравнению с интактной культурой. Смещение редокс-статуса в клетках линии MCF-7 под действием NEM в сторону окисления и активация процессов окислительной модификации белков, приводили к увеличению в 1,4 раза ($p < 0,01$) количества клеток, находящихся в S фазе клеточного цикла, по сравнению с интактной культурой (36,40 (34,43–37,67)%).

В тоже время количество опухолевых клеток, икубированных с блокаторм SH-групп белков, в G0/G1 фазах снижалось в 1,3 раза ($p < 0,01$) (в интактных опухолевых клетках – 56,37 (55,89–56,57)%) и G2/M фазах клеточного цикла достоверно не отличалось от контроля, по сравнению с аналогичными значениями показателей в интактной культуре, составившими 7,92 (5,82–10,11)%. Культивирование клеток аденокарциномы молочной железы с протектором SH-групп протеинов и пептидов не приводило к значимым различиям в распределении по фазам клеточного цикла по сравнению с интактной культурой.

Заключение. Таким образом, нарушение прохождения опухолевых клеток по фазам клеточного цикла при снижении редокс-статуса и увеличении концентрации карбонильных производных белков под действием N-этилмалеимида, может свидетельствовать о нарушениях процессов репликации молекул ДНК, обусловленных изменением функциональ-

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

ной активності редокс-чутливих білків, в частині транскрипційних факторів, циклінов і циклін-залежних кіназ. Отримані результати в подальшому можуть бути використані для розробки підходів таргетної терапії опухолі молочної залози.

Дослідження виконано при фінансовій підтримці Російського гуманітарного наукового фонду в рамках наукового проекту № 15–36–01289.

Молекулярно-генетическі підтипи плоскоклітинного раку шлункової кишки

Кут О. І., Тодоров С. С., Колесников Е. Н., Пржедецький Ю. В.
Місце роботи: ФГБУ «Ростовський науково-дослідницький онкологічний інститут» Мінздраву Росії
e-mail: rnioi@list.ru

Рак шлункової кишки – одна з найбільш актуальних проблем в сучасній онкології. Прієднано, це обумовлено тим, що при своєчасно встановленій діагнозу виконуються різні хірургічні втручання, в тому числі резекції шлункової кишки з пластикой шлункової кишки або товстої кишки. Застосування високотехнологічних методів лікування, таких як лапароскопічна резекція шлункової кишки з пластикой, стентування вимагає повного представлення об особливостях прогресування, стадії розвитку опухолі, наявності регіонарних метастазів. Крім того, фундаментальні питання, що стосуються особливостей патоморфогенезу плоскоклітинного раку шлункової кишки, до сих пор залишаються маловивченими.

Ціллю нашої дослідження було морфологічне, імуногістохімічне дослідження біопсійного і операційного матеріалу при плоскоклітинному раку шлункової кишки.

Матеріали і методи. Біопсійний і операційний матеріал від 20 пацієнтів з встановленим плоскоклітинним раком шлункової кишки, в тому числі у 12 чоловіків і 8 жінок. Середній вік хворих становив 49 років. Для розуміння морфобіологічних особливостей структури плоскоклітинного раку шлункової кишки нами було виконано імуногістохімічне дослідження, включаюче визначення Ki-67, p53, p63, CK17, CK5/6, CD44, EGFR, Е-кадгеріна, рецепторів до естрогену, прогестерону, колагену ІV типу. Використовувалися первинні антитіла фірми Ventana «ready to use» в імуногістохімічній системі BenchMark Ventana виробництва США.

Результати. По ступеню диференціювання плоскоклітинний рак був представлений наступними морфологічними варіантами: високодиференційованим з ороговінням (G1, 5 випадків), умеренодиференційованим (G2, 7 випадків), низкодиференційованим (G3, 8 випадків). Глибина інвазії залежала від ступеню диференціювання раку шлункової кишки. При G1 плоскоклітинному раку шлункової кишки інвазія була не глибше підслизової і внутрішньої м'язової оболонки, в той же час при G2-G3 плоскоклітинному раку досягала зовнішніх м'язових шарів і серозної оболонки. Ступінь вираженості запальної клітинної інфільтрації варіювала і була різко вираженою при G1 карциномі, мінімальною при G3 раку.

Сравнительний аналіз імуногістохімічних маркерів в тканині опухолі дозволив виділити певні закономірності. Так, було відмічено повне відсутство рецепторів до гормонів (естрогену, прогестерону) в тканині опухолі незалежно від ступеню диференціювання і глибини її інвазії.

Білок міжклітинної адгезії Е-кадгерін давав слабку мембранну експресію в різних морфологічних варіантах плоскоклітинного раку шлункової кишки, т.е. не мав, на наш погляд, суттєвої прогностичної цінності.

В той же час, експресія білків EGFR, CD44, p53, Ki-67, p63, CK5/6, CK17 мала певні закономірності в тканині опухолі.

На основі проведеного порівняльного імуногістохімічного дослідження різних типів плоскоклітинного раку шлункової кишки ми запропонували виділити чотири біологічних підтипів.

Перший біологічний підтип плоскоклітинного раку характеризувався різкою мембранною експресією білка EGFR (3+), різкою мембранною експресією білка міжклітинної адгезії CD44 (дифузійна експресія, більше 75% площі опухолі), негативною ядерною реакцією мутантного білка p53, умереною ядерною експресією білка Ki-67 (30–35% ядер клітин опухолі). Слід відзначити, що при цій формі плоскоклітинної карциноми мала виражену цитоплазматичну експресію цитокератину CK5/6 всієї товщини опухолі, експресія білків CK17, p63 була негативною. Такий молекулярно-генетический варіант ми позначили як диференційований, EGFR позитивний. При порівнянні даного варіанта і ступеню диференціювання в 80% спостережень він відповідав G1 плоскоклітинному раку з ороговінням, в 20% – G1 плоскоклітинному раку без ороговіння.

Другий біологічний підтип характеризувався різкою мембранною експресією білка EGFR (3+), наявністю мембранної реакції білка CD44 в периферических відділах опухолі, високим рівнем ядерної експресії мутантного білка p53 (80–85%), індексу проліферативної активності Ki-67 (65–85% ядер клітин). Експресія цитокератину CK5/6 мала виражену в окремих кластерах опухолі, мозаїчною була експресія цитокератину CK17, ядерна експресія білка p63. Такий підтип опухолі ми позначили як небазальний, EGFR позитивний.

Третій біологічний підтип характеризувався відсутністю мембранної експресії білка EGFR (0,+1), негативною реакцією клітин опухолі білка CD44 як в центральних, так і в периферических її відділах, високим рівнем проліферативної активності Ki-67 (70–85%) і рівня апоптозу p53 (80–90%). Експресія цитокератинів CK5/6, CK17 була негативною во всіх ділянках опухолі, в той же час ядерна експресія білка p63 була різко вираженою в 80–90% ядер клітин. Молекулярно-генетический підтип опухолі ми позначили як базальний, EGFR негативний.

Четвертий біологічний підтип характеризувався відсутністю мембранної експресії білка EGFR, білок міжклітинної адгезії CD44 в 40% спостережень був різко позитивний, в 60% – негативний. Рівень експресії білка апоптозу p53 був дуже високим (80–90% ядер клітин), індекс проліферативної активності Ki-67 визначався в межах 60–75% ядер клітин опухолі. Експресія цитокератину CK5/6 була негативною во всіх ділянках опухолі, в той же час ядерна експресія білка p63, CK17 була різко вираженою в 90–95% ядер клітин. Такий молекулярно-генетический підтип плоскоклітинного раку ми визначили як недиференційований, EGFR негативний.

Висновок. Отримані результати морфологічного, імуногістохімічного дослідження дозволяють вважати плоскоклітинний рак шлункової кишки гетерогенною структурою,

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

имеющей свои молекулярно-генетические подтипы – дифференцированный, EGFR позитивный; небазальный, EGFR позитивный; базальный, EGFR негативный; недифференцированный, EGFR негативный.

Вероятно, рецепторная активность к EGFR исчезает с утратой дифференцированных клонов клеток опухоли, что необходимо учитывать при разработке таргетной терапии. Отсутствие рецепторов гормонов к эстрогену, прогестерону в ткани опухоли независимо от пола пациента указывает на тот факт, что данная категория новообразований не является гормонально-зависимой.

Полученные сведения об особенностях морфобиологического строения плоскоклеточного рака пищевода и его молекулярно-генетических подтипах позволяют разработать персонализированный подход в хирургическом лечении и таргетной терапии.

Хлорокин потенцирует цитотоксичность темозоломида *in vitro* на клеточных линиях метастатической меланомы

Рябая О. О.^{1,2}, Егорова А. В.², Степанова Е. В.¹

Место работы: 1. ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва; 2. ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, г. Москва
e-mail: oxa2601@yandex.ru

Цель. Несмотря на успехи в лечении метастатической меланомы (ММ) кожи и увеличение продолжительности жизни пациентов, прогноз течения болезни остается неблагоприятным. Медиана выживаемости больных ММ составляет 8–10 месяцев в разных клинических исследованиях. Поэтому поиск новых тактик и комбинаций лечения меланомы является актуальным.

Хлорокин – ингибитор аутофагии – показал свою активность при ряде злокачественных новообразований в доклинических исследованиях как в монорежиме, так и при включении в стандартные схемы лечения. В данном исследовании мы изучили влияние хлорокина, а также ингибитора образования аутофагосом (LY-294002) на цитотоксичность темозоломида (TMZ) на клеточных линиях ММ кожи человека *in vitro*.

Материалы и методы. В работе были использованы 4 клеточные линии ММ, полученные от пациентов с различным онкогенным статусом гена B-RAF, находившихся на лечении в РОНЦ им. Н. Н. Блохина. Для оценки цитотоксичности использовали МТТ тест, проточную цитометрию, иммуноцитохимию. Модуляцию активности аутофагии проводили за счет трансфекции миРНК клеточных линий аутофаго-ассоциированных белков, либо при использовании ингибиторов аутофагии: хлорокина (Sigma, США) и LY-294002 (Sigma, США).

Результаты. Для изучения влияния хлорокина на цитотоксичность химиопрепарата, TMZ был взят в нетоксических концентрациях (100 и 200 мкМ). МТТ тестом было показано, что хлорокин потенцирует действие TMZ, увеличивая гибель клеток ММ в среднем на 20%. Стоит отметить, что клетки с мутантным статусом B-RAF оказались более чувствительными к комбинации препаратов. Анализ запуска апоптоза оценивали окрашиванием аннексином V и пропидия йодидом цитометрически после 24-часовой инкубации с препаратами. Апоптотическая активность TMZ в концентрации 500 мкМ была примерно одинаковой у всех клеточных линий, вне за-

висимости от статуса гена B-RAF и варьировала в пределах 3–8%. Анализ индукции апоптоза под действием хлорокина показал его увеличение до 17,5±2,9% у B-RAV600 клеток, но его уровень практически не менялся у клеток дикого типа 5,2±3%.

Иммуноцитохимически было показано, что комбинация хлорокина и TMZ увеличивала количество белка LC3B (маркера уровня аутофагосом) по сравнению с контролем и препаратами в монорежиме. Ингибирование аутофагии за счет миРНК снижало токсическое действие на клетки ММ самого хлорокина. Добавление ингибитора образования аутофагосом – LY-294002 – также увеличивало токсичность TMZ, но не влияло на действие хлорокина. При этом коинкубация клеток с 2 ингибиторами приводила к увеличению цитотоксичности TMZ: выживаемость клеток ММ уменьшалась с 80% до 30%. Таким образом, можно предположить, что аутофагия предохраняет клетки от темозоломид-индуцированной цитотоксичности.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют, что хлорокин ингибирует аутофагию в меланомных клетках и повышает их химиочувствительность к темозоломиду. Перспективным можно считать и другой ингибитор аутофагии с иным механизмом действия – LY-294002. Данные комбинации требуют дальнейшего изучения, в том числе в опытах *in vivo*.

Распределение клеток по фазам клеточного цикла в опухолевой и неизменной ткани при поверхностном раке мочевого пузыря

Мазаев А. В.^{1,2}, Семенов Э. В.^{1,2}, Зуков Р. А.^{1,2}, Мошев А. В.², Якунина Е. Ю.², Слепов Е. В.²

Место работы: 1. ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, г. Красноярск; 2. КГБУЗ КККОД им. А. И. Крыжановского, г. Красноярск
e-mail: mazaev@list.ru

Рак мочевого пузыря (РМП) является достаточно частой патологией: его встречаемость составляет 2–5% всех злокачественных новообразований. За последние 10 лет распространенность РМП выросла почти на 50%, а показатель активного выявления увеличился в 3 раза.

Клеточный цикл – это период жизни клетки от одного деления до другого или от деления до смерти. Благодаря регуляции клеточного цикла в норме осуществляется точный контроль за дубликацией ДНК и последующим делением клетки и предупреждается потеря генетической информации. Клеточный цикл имеет ряд контрольных точек, играющих важную роль в защите нормального генома от повреждения. В настоящий момент человечеством накоплено огромное количество данных о механизмах регуляции фаз клеточного цикла и о возможных их нарушениях. Нарушение регуляции фаз клеточного цикла является основополагающим явлением при развитии любой онкологической патологии.

Цель. Изучить клеточный цикл в опухолевой и неизменной ткани при поверхностном РМП.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 25 пациентов с поверхностным РМП (T1N0M0 или TisN0M0), получавших лечение на базе КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А. И. Крыжановского». Материалом для исследования являлась ткань мочевого пузыря, полученная в результате трансуретральной ре-

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

зекции. В процессе резекции у пациентов забирался участок стенки мочевого пузыря, содержащий опухоль и участок, свободный от патологического процесса. Полученную ткань гомогенизировали в физиологическом растворе. Полученный гомогенат пропускали через фильтр с размером пор 50 мкм, и дважды отмывали в PBS.

Изучение клеточного цикла осуществляли с использованием метода флуоресцентного окрашивания ki-67 и йодидом пропидия. Выделенные клетки инкубировали в 96% этиловом спирте на холоде в течении 30 минут, затем дважды отмывали в PBS. В дальнейшем проводили окрашивание моноклональными антителами к ki-67 меченными FITC (максимум флуоресценции на 525 нм, Becton Dickinson, США). Также добавляли йодид пропидия (максимум флуоресценции на 610 нм, Sigma-Aldrich, США), после чего взвесь перемешивали и инкубировали в темноте 15 минут. Измерения флуоресценции проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCantoll (Becton Dickinson, США).

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ «Statistica 7.0» (StatSoft, Inc., USA).

Результаты. При проведении исследования были получены данные по распределению выделенных клеток на скатерограммах, выдаваемых анализатором. Анализируя полученные данные, можно сделать следующие выводы: основное количество зарегистрированных событий попало в область, с максимальной экспрессией ki-67 и низкой флуоресценцией по длине волны йодида пропидия. В эту область попали клетки, находящиеся в S-фазе клеточного цикла.

Клетки с высокой экспрессией ki-67 и интенсивной флуоресценцией по длине волны йодида пропидия находятся в фазе G2, когда генетический материал уже реплицирован и клетка готовится к делению. В этой фазе митоза происходит деление клеток с переходом от диплоидного к гаплоидному набору ДНК и отсутствием экспрессии ядерных белков.

После деления клетки переходят в фазу G1. В таких клетках начинается синтез макромолекул и подготовка к репликации генетического материала. В этой же области можно выделить небольшое облако событий, в которой отмечены клетки, находящиеся в фазе G0, фазе покоя, когда отсутствует синтетическая активность. При анализе полученных данных можно довольно точно соотнести показатели флуоресценции клеток с тем, в какой из фаз клеточного цикла они могут находиться. В результате проведенных исследований нами было показано что, большинство (61,33%) клеток здоровой ткани находятся в синтетической (S-) фазе клеточного цикла. Выстилающий изнутри полость мочевого пузыря переходный эпителий в норме проявляет умеренную синтетическую активность. Эта активность проявляется в выработке и выделении на поверхность клеток гликозаминогликанов, которые образуют тонкий защитный слой, препятствующий проникновению в стенку мочевого пузыря воды, различных факторов мочи и бактерий. Поэтому, для поддержания функционального состояния органа необходимо, чтобы основная часть клеток находилась в тех фазах клеточного цикла, когда происходит цитоплазматический синтез макромолекул. Незначительная часть клеток находится в состоянии подготовки к делению, либо в самом процессе митоза (3,73%). Это требуется для непрерывного обновления эпителиального слоя.

Как и в здоровой ткани, в опухолевой ткани основная часть клеток находится в S-фазе клеточного цикла. В настоящий

момент у нас недостаточно данных для проведения полноценного статистического анализа различий здоровой и опухолевой ткани при РМП, однако уже сейчас обращают на себя внимание некоторые различия. Так, например, количество клеток, находящихся в G0-фазе в ткани опухоли почти в 2 раза больше, чем в неизменной ткани (2,30% и 4,20% соответственно, $p < 0,01$).

В данной фазе клеточного цикла минимизируется внутриклеточная активность, в том числе, синтез белков. Фаза покоя характерна для высокодифференцированных клеток. Только после получения внешнего митогенного сигнала такая клетка способна вернуться в G1-фазу и проявить высокую метаболическую активность.

Так как в исследовании принимали участие пациенты с начальными стадиями РМП, доля патологически измененных клеток в общем объеме удаленной ткани невелика. Обнаруженный факт, что в опухолевой ткани число клеток, находящихся в состоянии покоя больше, чем в неизменной, свидетельствует о снижении клеточной активности. Уменьшается интенсивность обновления эпителиального слоя, что, в свою очередь, может являться дополнительным фактором, способствующим распространению злокачественной опухоли.

Заключение. Таким образом, отличия по фазам клеточного цикла между здоровой и опухолевой тканью, обнаруженные в ходе нашего исследования, позволяют предположить, что в начальной стадии РМП снижается интенсивность обновления эпителия слизистой. С использованием полученных данных о распределении клеток по фазам клеточного цикла, возможно построение модели, позволяющей прогнозировать пути дальнейшего развития заболевания.

Явление потери гетерозиготности в антионкогенах p21 (A1026G и G369C) и Вax (G248A) у больных раком легкого

Дмитриева А. И.^{1,2}, Янкович К. И.^{1,2}, Серебрякова В. А.^{1,2}, Ракитин С. С.^{1,2}, Новицкий В. В.¹

Место работы: 1. ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск; 2. ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», г. Томск

e-mail: alladmitrieva@mail.ru

Актуальность. Развитие рака легкого является сложным многоступенчатым процессом накопления эффектов структурных и функциональных изменений различных групп генов. Одним из таких генетических изменений может стать явление потери гетерозиготности, которое приводит клетку к гомозиготному состоянию по вариантному аллелю, ассоциированному с повышенным онкологическим риском.

Особый интерес вызывают антионкогены, в норме предотвращающие злокачественную трансформацию клетки. Продукт гена p21 является супрессорным белком, который препятствует делению клетки, блокируя продвижение по постсинтетической фазе G2 и вход в митоз. Ген p21 является одной из основных мишеней трансактивационного действия p53, ключевого регулятора, который может координировать процесс репарации, либо индуцировать апоптоз. Поэтому любые изменения в функционировании гена p21 могут нарушить неустойчивое равновесие механизмов, регулирующих клеточный цикл, и оказать онкогенное влияние. Белковый продукт гена Вax,

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

являющийся членом семейства Bcl-2, способен формировать бах-бах димеры, усиливающие действие активаторов апоптоза. В работах зарубежных авторов показано, что полиморфизм G248A этого гена, локализованный в промоторном регионе, приводит к снижению экспрессии этого гена.

Цель. Провести анализ потери гетерозиготности генов-регуляторов клеточного цикла p21 (A1026G и G369C) и Вах (G248A) в ткани опухоли легкого.

Материал и методы. Исследовано 93 парных ДНК-образца, полученных из операционного материала (опухолевая ткань легкого и соответствующие им образцы гистологически не измененной легочной паренхимы) больных центральным раком легкого. Выделение геномной ДНК проводили из парафиновых блоков с использованием коммерческого набора "FF-PET DNA kit" (Qiagen, Германия), следуя инструкции производителя. Парафиновые срезы, полученные методом стереотактической диссекции под контролем световой микроскопии, депарафинизировали с использованием ксилола и этанола. Поиск потери гетерозиготности биаллельных локусов генов p21 и Вах проводили путем сравнительного генотипирования опухолевой ткани и ткани, взятой на границе резекции. Типирование образцов по полиморфизмам исследуемых генов проводили путем ПЦР-ПДРФ-анализа. Продукты ПДРФ анализировали в 4%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия и визуализировали в проходящем УФ-свете.

Результаты. Исследование A1026G-полиморфизма гена p21 обнаружило явление потери гетерозиготности в данном локусе при раке легкого. Анализ позволил установить статистически значимое ($p=0,01$) увеличение частоты встречаемости гомозиготного генотипа А (73,12%) и уменьшение частоты гетерозиготного генотипа AG (13,98%) в опухолевой ткани по сравнению с аналогичными показателями в нормальной ткани (55,91% и 34,41% соответственно). Различий в распределении генотипов гена p21 G369C между опухолевой и нормальной тканью легкого выявлено не было.

У 12 из 21 (57,14%) носителя GA-генотипа гена Вах была обнаружена потеря гетерозиготного статуса клетками опухолевого клона, причем во всех случаях имела место утрата аллеля А. Установлено значимое ($p=0,01$) увеличение частоты встречаемости гомозиготного генотипа G (89,25%) и снижение частоты гетерозиготного GA-генотипа (9,68%) в опухолевой ткани по сравнению с аналогичными показателями в нормальной ткани (72,04% и 22,58% соответственно).

Закключение. Установленное у больных раком легкого явление потери гетерозиготности для полиморфизма A1026G гена p21 может приводить к снижению транскрипционной активности супрессорного гена за счет утраты протективного G-аллеля. Промотор гена p21, в котором присутствует аллель А A1026G-полиморфизма, обладает меньшей эффективностью, в результате чего синтез белка p21, главного фактора остановки клеточного цикла в ответ на повреждение ДНК, снижается.

Утрата протективного аллеля А в промоторном регионе G248A гена Вах ассоциирована со снижением экспрессии этого гена. Известно, что полиморфизм G248A расположен в непосредственной близости от p53-response element – участка ДНК, с которым связывается главный транскрипционный фактор – белок p53. Таким образом, потеря гетерозиготного статуса антионкогенов, регулирующих клеточный цикл, может явиться определяющим фактором в процессе опухолевой трансформации.

Влияние гепарина и его аналогов на миграцию и инвазию опухолевых клеток человека in vitro

Снигирева А. В.¹, Врублевская В. В.¹, Лисов А. В.², Моренков О. С.¹

Место работы: 1. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, РФ; 2. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, г. Пущино, РФ.

e-mail: snigireva.s@gmail.com

Цель. Метастазирование является основной причиной смертности при раковых заболеваниях. Метастазирование – комплексный процесс образования вторичных очагов опухолевого роста, включающий в себя несколько этапов:

1. отделение злокачественной клетки от первичной опухоли,
2. интравасация (инвазия злокачественной клетки в стенку лимфатического или кровеносного сосуда),
3. эмболия (циркуляция опухолевой клетки в лимфатических и кровеносных сосудах),
4. экстравазация (инвазия клетки в стенку сосуда и в окружающую ткань),
5. пролиферация клеток и формирование метастаз. Разработка препаратов противоопухолевого действия с антиметастатической активностью является одним из приоритетных направлений в онкологии.

Белок теплового шока 90 (Hsp90) играет важную роль в функционировании клетки при нормальных и стрессовых условиях. Известно, что экстраклеточный Hsp90, обнаруженный на мембране клеток и во внеклеточном пространстве, участвует в стимуляции миграции и инвазии клеток in vitro и метастазировании in vivo. Функционируя как экстраклеточный молекулярный шаперон, Hsp90 связывается с рядом мембранных рецепторов и экстраклеточных белков, тем самым обеспечивая поддержание инвазивного статуса опухолевых клеток. Ингибирование экстраклеточного Hsp90 приводит к снижению подвижности и инвазии опухолевых клеток in vitro, и ингибированию метастазирования. С учетом вышесказанного он представляет перспективной молекулярной мишенью для разработки противоопухолевых препаратов, блокирующих метастазирование.

В настоящий момент достоверно доказанным рецептором экстраклеточного Hsp90 является только LRP-1 (CD91). Наши исследования были направлены на поиск возможных рецепторов Hsp90, в результате нами была обнаружена связь между гепарансульфатами (ГС) клеточной мембраны и мембранной экспрессией Hsp90. Ранее мы показали, что на плазматической мембране клеток глиобластомы (A-172) и фибросаркомы (HT 1080) человека экспрессируются две изоформы Hsp90 – alpha и beta, и обнаружили, что клеточные ГС являются одним из рецепторов (ко-рецепторов) Hsp90 на мембране. Известно, что гепарин, структурный аналог клеточных ГС, блокирует миграцию и инвазию опухолевых клеток in vitro и in vivo. Мы предположили, что гепарин может блокировать взаимодействие Hsp90 с клеточными ГС, тем самым ингибируя метастазирование клеток. Кроме гепарина, мы исследовали синтезированный нами сополимер 2,5-дигидроксibenзойной кислоты и желатина (2,5-ДГБК-желатин), который, также как гепарин, блокирует взаимодействие различных лигандов с ГС.

Материалы и методы. В работе использовали клеточные линии A-172 (глиобластома человека) и HT1080 (фибро-

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

саркома человека) из коллекции клеточных культур Института цитологии РАН. Клетки культивировали в среде DMEM, содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки (FBS) (DMEM-10% FBS).

Для определения миграции клеток *in vitro* методом нанесения «экспериментальной раны» на монослой клеток (Wound healing assay), клетки выращивали на чашках Петри (35 мм, Corning) до состояния конфлюэнтного монослоя, затем на сформированном монослое удаляли участок клеток, проделывая борозду шириной около 300 мкм. В чашки Петри добавляли исследуемые препараты гепарина и 2,5-ДГБК-желатин в различных концентрациях. В качестве контроля использовали чашки Петри со средой без добавок. Площадь заращения исходной «раны» на клеточном монослое определяли через 6 ч. Определение миграции клеток *in vitro* с помощью вкладышей с полиэтилентерефталат (PET) мембраной (CellSert, Millipore, размер пор 8 мкм) проводили согласно стандартным протоколам. Перед экспериментом клетки выдерживали в среде DMEM, содержащей 0,2% бычьего сывороточного альбумина (DMEM-BSA) в течение 20 ч при 37 °C. Во вкладыш помещали клетки в среде DMEM-BSA, в качестве хемоаттрактанта в нижнем резервуаре использовали DMEM-5% FBS. Прошедшие за 6 ч через PET-мембрану клетки фиксировали, окрашивали Crystal violet, лизировали, измеряли оптическую плотность и рассчитывали количество клеток, проникших через мембрану. Влияние исследуемых препаратов на миграцию клеток оценивали, сравнивая количество клеток, мигрировавших через PET-мембрану, в контрольных лунках и лунках с добавлением гепарина и 2,5-ДГБК-желатин. Влияние препаратов исследовали в концентрациях от 10 до 100 мкг/мл.

Для определения инвазии клеток *in vitro*, вкладыши с PET-мембраной обрабатывали экстрактом базальной мембраны (Basement Membrane Extract, Trevigen), аналогом экстракционного матрикса, в соответствии с рекомендациями изготовителя. Влияние гепарина и сополимера 2,5-ДГБК-желатин на инвазию клеток оценивали, как описано выше для миграции клеток, за исключением того, что инкубацию клеток во вкладышах проводили в течение 24 ч при 37 °C.

Для анализа клеток с помощью конфокальной микроскопии, клетки выращивали на 8-луночных камерах для микроскопии (Chambered coverglasses, Nunc™ Lab-Tek™), промывали фосфатно-солевым буферным раствором, содержащим 0,05% NaN₃ (PBS-NaN₃) и инкубировали с первичными антителами, направленными к двум изоформам Hsp90 (USBiological). После промывки PBS-NaN₃, клетки инкубировали с флуоресцентно-мечеными вторичными антителами к иммуноглобулинам кролика (Jacksons ImmunoResearch). Все инкубации проводили в PBS-NaN₃ с добавлением 2% BSA при 4 °C. Клетки фиксировали 0,5% раствором формальдегида 15 минут при 4 °C. Съемку проводили с помощью сканирующего микроскопа Leica TCS SP5. Для анализа клеток методом проточной цитофлуориметрии, клетки открепляли, используя 0,05% раствор Na-EDTA, промывали PBS-NaN₃, инкубировали с первичными и вторичными антителами, как описано выше. После фиксации раствором формальдегида, клетки анализировали с помощью проточного цитофлуориметра Accuri C6 (Becton Dickinson).

Результаты. Гепарин и 2,5-ДГБК-желатин не обладали цитотоксичностью и не влияли на пролиферацию клеток до концентрации 1 мг/мл. С использованием двух методов мы показали, что гепарин ингибирует миграцию клеток A-172

и HT1080 на 58,2±5%; максимальный эффект достигался при концентрации гепарина 20 мкг/мл и выше. 2,5-ДГБК-желатин при концентрации 50 мкг/мл снижал миграцию клеток A-172 и HT 1080 на 51,5±5% и 43,4±4%, соответственно. С помощью вкладышей с PET мембраной, покрытой экстрактом базальной мембраны, мы обнаружили, что гепарин и 2,5-ДГБК-желатин ингибировали инвазию клеток A-172 и HT1080 *in vitro* на 60,0±7% и 78,7±5% соответственно.

С использованием проточной цитофлуориметрии и конфокальной микроскопии мы показали, что обработка клеток гепарином и сополимером 2,5-ДГБК-желатин приводит к снижению экспрессии Hsp90-alpha и Hsp90-beta на плазматической мембране клеток в 1,8±3 и 4,3±6 раз соответственно.

Заключение. Обнаруженная нами корреляция между уровнем мембранной экспрессии двух изоформ Hsp90 и миграцией/инвазией опухолевых клеток *in vitro*, позволяют предположить, что гепарин и синтезированный нами сополимер 2,5-ДГБК-желатин ингибируют миграцию и инвазию клеток, предотвращая связывание Hsp90 с клеточной мембраной или вызывая диссоциацию белка с поверхности клетки. Полученные результаты указывают на перспективность использования препаратов, блокирующие взаимодействие Hsp90 с гепарансульфатами клеточной мембраны, в качестве противоопухолевых препаратов, тормозящих метастазирование опухолевых клеток.

Оценка уровня экспрессии гена BECLIN1 у больных колоректальным раком

Ракитин С. С., Дмитриева А. И., Янкович К. И., Кудяков Л. А.

Место работы: ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет»

e-mail: rakitinss@yandex.ru

Колоректальный рак одна из ключевых проблем современной онкологии. Отмечено, что частота встречаемости впервые выявленных случаев колоректального рака ежегодно растет (Переводчикова Н. И., 2014). Развитие колоректального рака является комплексным и многостадийным процессом, сопровождающимся изменением работы многих генов-регуляторов клеточного цикла и ключевых механизмов, обеспечивающих функционирование клетки в норме и при патологии. Новым актуальным направлением в изучении особенностей поведения опухолевого клона является поиск ключевых факторов, участвующих в аутофагии, к которым относится белок BECLIN1 (Calabretta B., et al. 2011; Chen Y., et al. 2011).

Цель настоящего исследования заключалась в оценке уровня экспрессии гена BECLIN1 у больных раком сигмовидной кишки с различной степенью дифференцировки и поиске корреляционных связей между уровнем экспрессии данного гена и рецидивированием опухолевого процесса.

Материал и методы. В исследование были включены 72 больных раком сигмовидной кишки (42 мужчины (58%) и 30 женщин (42%)), находящихся на диспансерном учете в ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер», средний возраст (±SD) которых составил 57,3±6,9 лет. Гистологические исследования препаратов опухоли выявили в группе обследованных следующее распределение: умереннодифференцированная аденокарцинома – 49 случаев, низкодифференцированная аденокарцинома – 23 случая, в 5 из которых отмечались очаги рецидивирования в течение трех лет с мо-

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

мента постановки диагноза. Образцы тРНК были выделены из опухолевой ткани, полученной во время оперативного вмешательства и стабилизированной средой RNA-later, с использованием наборов AxyPrepMultisource RNA MiniPrepKit. Оценка уровня экспрессии гена BECLIN1 проводилась методом ОТ-ПЦР с последующей амплификацией кДНК в режиме реального времени. Уровень экспрессии оценивали по отношению к содержанию мРНК исследуемого гена BECLIN1 и 18S РНК в этих же образцах. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты. В результате проведенного исследования показано статистически значимое увеличение ($p < 0,05$) экспрессии гена BECLIN1 относительно 18S РНК у пациентов с умереннодифференцированной аденокарциномой по сравнению с аналогичным показателем у больных с низкой степенью дифференцировки рака сигмовидной кишки. У пациентов с низкодифференцированной аденокарциномой и выявленными рецидивами установлено статистически значимое снижение ($p < 0,05$) экспрессии гена BECLIN1 относительно таковой у лиц с безрецидивным течением опухолевого процесса.

Заключение. Таким образом, полученные в ходе исследования данные позволяют сделать вывод, что уровень экспрессии гена BECLIN1 у пациентов с умереннодифференцированной аденокарциномой сигмовидной кишки выше, чем у пациентов с низкой степенью дифференцировки опухоли. Кроме того, оценка данного показателя имеет важное прогностическое значение течения болезни.

Учитывая первостепенное значение аутофагии в жизненном цикле опухолевого клона, более глубокое изучение функционирования ключевого фактора аутофагии (BECLIN1) откроет новые фундаментальные закономерности злокачественной трансформации и тактики терапевтических мероприятий.

Аллель-специфичная ПЦР со свободной циркулирующей ДНК как способ диагностики метастазирования опухоли

Горбачева Т.М.¹, Солодских С.А.¹, Паневина А.В.¹, Башмаков В.Ю.¹, Михайлов А.А.², Мошуров И.П.², Маслов А.Ю.³, Попов В.Н.¹

Место работы: 1. ФГБОУ ВПО «Воронежский Государственный Университет», г. Воронеж, Россия; 2. БУЗ ВО «Воронежский областной клинический онкологический диспансер», г. Воронеж, Россия; 3. Медицинский колледж имени Альберта Эйнштейна, Университет Йешива, г. Нью-Йорк, США

e-mail: gorb.tanya@gmail.com

Метастазы и осложнения, вызванные их ростом, являются основной причиной смертности онкологических пациентов. В связи с этим особую значимость имеет возможность ранней диагностики метастатического роста. В настоящее время свободно циркулирующая ДНК (сДНК) крови является одним из перспективных биомаркеров в онкологии, так называемой жидкой неинвазивной биопсией. Концентрация сДНК не может быть использована как эффективное прогностическое и диагностическое средство (Frattini, 2008; Catarino, 2008), однако многообещающим является использование опухолеспецифичных мутаций для мониторинга трансформаций, происходящих с опухолью в процессе лечения, а также для раннего выявления онкологических патологий (Gahan,

2008; Figg, 2013; Schwarzenbach, 2011). Несмотря на высокую вариабельность фракции опухолеспецифичной сДНК, происходящей из раковых клеток предположительно путем апоптоза, которая составляет от 0,01% до 90% от всей сДНК крови, сДНК выступает более чувствительным и информативным биомаркером в отличие от циркулирующих опухолевых клеток (Dawson, 2013). Так, Макбрайд с соавторами картировали геномные перестройки сДНК для трех видов рака и показали, что возможность использования ПЦР для детекции перестроек опухолевого генома в плазме без ложноположительных результатов (Dalglish, 2010).

Целью данной работы являлась разработка персонализированного подхода для осуществления мониторинга возникновения метастазирования/рецидива заболевания у пациентов с почечноклеточным светлоклеточным типом рака.

Методика заключается в мониторинге изменений фракции маркерных мутантных аллелей в сДНК крови путем проведения аллель-специфичной ПЦР с наборами праймеров, специфичных к обнаруженным мутациям для опухоли каждого конкретного пациента, установленных в процессе секвенирования тканей норма-опухоль. Следует отметить, что разрабатываемая методика не специфична, т.е. не привязана к какой-то определенной форме рака, а основана на фундаментальной особенности всех злокачественных опухолей – повышенном уровне геномной нестабильности в ткани опухоли.

Геномную ДНК выделяли из нормальной и опухолевой ткани с помощью набора Quick-gDNA™ MiniPrep (Zymo Research), сДНК – набором QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen), измерение концентрации ДНК осуществляли набором Qubit dsDNA BR Assay Kit (Life Technologies). Библиотеку фрагментов ДНК готовили с помощью набора Ion AmpliSeq™ Library Kit 2.0 и Cancer Comprehensive Panel (Life Technologies), концентрацию библиотек измеряли KAPA Library Quantification Kit (KapaBiosystems), секвенирование проводили на базе платформы Ion PGM (Life technologies). После попарного сравнения норма-опухоль с помощью программы Ion Reporter (Life technologies) выбраны опухолеспецифичные мутации. Критерии отбора мутаций следующие: содержатся в экзонной либо промоторной части гена, приводят к замене аминокислоты в составе соответствующего белка или являются синонимичными; исследуемые мутации представлены в исходном образце не менее чем в 25% прочтений; количество прочтений, содержащих данные мутации (глубина секвенирования) превышает 500; тип исследуемых мутаций – «одонуклеотидная замена» или «полинуклеотидная замена». Последующую аллель-специфичную ПЦР проводили с использованием SNPdetect полимеразы (Евроген), сигнал детектировали Sybr Green (Bio-Dye). В ходе анализа ставятся два типа аллель-специфичных ПЦР (АС-ПЦР) реакций: реакция 1 – с праймером дикого типа; реакция 2 – реакция с аллель-специфичным/мутантным праймером. В силу высокой вариабельности результатов АС-ПЦР в каждую реакцию вводятся два вида контролей: контроль 1 – положительный контроль, в качестве которого выступает геномная ДНК, выделенная из опухолевой ткани (мутантная ДНК); контроль 2 – отрицательный контроль, в качестве которого выступает геномная ДНК, выделенная из нормальной ткани (нормальная/дикого типа ДНК). ΔCq рассчитываем по формуле: $\Delta Cq = Cq \text{ реакции } 1 \text{ (мутантной аллели)} - Cq \text{ реакции } 2 \text{ (аллели дикого типа)}$.

Интерпретация результатов основана на использовании контролей: контроль 1, содержащий мутацию, является по-

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

казателем максимального процента мутантной аллели – 50% и меньше, и выступает в качестве нижнего предела вариабельности ΔCq реакции АС-ПЦР с сДНК. Тогда как контроль 2, соответствующий ДНК, в которой отсутствует мутация, выступает в качестве верхнего предела вариабельности ΔCq реакции АС-ПЦР с сДНК (мутантная аллель в образце отсутствует, полученная Cq соответствует уровню неспецифического отжига). В пределах данного окна вариабельности должен находиться процент мутантной аллели сДНК.

Из выявленных мутаций выбраны две: в генах *prkdc* (chr8:48848443, с.1296Т>С, частота 26,7%) и *per1* (chr17:8049770, с.1958С>А, частота 25%) для последующего проведения аллель-специфичной ПЦР.

В ходе проведения аллель-специфичной ПЦР с геном *prkdc* для контроля 1 (опухолевая ДНК) значение ΔCq составило 0,75, для контроля 2 (нормальная ДНК) значение ΔCq – 7,08, то есть в опухолевой ДНК содержится мутантный аллель гена *prkdc*, в нормальной ДНК – отсутствует. Тогда как образцы сДНК 1, 2, 3, соответствующие точкам до операции, после операции и через 3 месяца, имеют ΔCq 7,32; 7,21; 6,54 близкую к ΔCq контроля 2, что свидетельствует об отсутствии мутантных аллелей в них и наличие только аллелей дикого типа гена *prkdc*.

Для мутации гена *per1* получены следующие данные: для контроля 1 значение ΔCq составило 5,9, для контроля 2 – 5,4, то есть данная мутация половая и содержится в опухолевой и нормальной ДНК. В образцах сДНК получены сходные значения ΔCq 7,99; 6,60; 6,24 без значительных изменений в стору увеличения процента мутантных аллелей.

Таким образом, выявленный уровень мутантных аллелей маркерных генов *prkdc* и *per1* во фракции сДНК, выделенной из крови, взятой до, после операции и через 3 месяца, остался неизменным на протяжении исследуемого времени, на основании чего сделан вывод об эффективности проведенной операции и выбранного лечения у данного пациента и отсутствии метастазирования на данное время.

Дифференциальная цитологическая диагностика опухолевых и неопухолевых плевритов

Григорук О. Г.¹, Лазарев А. Ф.¹, Дударенко С. В.²

Место работы: 1. Алтайский филиал Российского онкологического центра им. Н.Н. Блохина, г. Барнаул; 2. Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им А.М. Никитова МЧС России, г. Санкт-Петербург
e-mail: cytolakod@rambler.ru

Цель работы. Обоснование новых возможностей цитологических исследований при опухолевых и неопухолевых плевритах с использованием иммуноцитохимических методов для повышения качества диагностики патологических процессов.

Материал и методы. Оценены результаты цитологического исследования патологических процессов в плевральной жидкости у 2222 пациентов, находившихся на лечении в КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» за 9 лет. Препараты для цитологического исследования готовили и традиционным и жидкостным методом, окрашивали по Паппенгейму. Для уточнения первичного очага метастазирования в плевральной жидкости, диагностики эпителиоидной мезотелиомы плевры, исключения рака при паранеопластических плевритах, подтверждения «реактивного» плеврита, использовали иммуноцитохимические методики. Оценивали

клеточные признаки при световой микроскопии и использовании иммуноцитохимических методик. Полученные данные сопоставили с окончательным диагнозом. Статистический анализ проводили на персональном компьютере с использованием программы «Statistica Microsoft Windows» версия 10.0, применяли многофакторный и дискриминантный анализ.

Результаты и обсуждение. Плевриты реактивного и воспалительного характера отмечены у 1309 пациентов (59,0% всех наблюдений). Все больные с ССЖПП реактивного и воспалительного характера были распределены на пять групп:

1. больные плевритом реактивного характера (513 человек);
2. больные паранеопластическим плевритом (405 человек);
3. больные параневмоническим плевритом (26 человек);
4. больные с выпотом при сердечной недостаточности (48 человек);
5. больные ССЖПП при туберкулезе легких (317 человек).

По результатам многофакторного анализа клеточного состава плевральной жидкости нами сформированы группы взаимосвязанных цитологических признаков, описывающих большинство наблюдений.

Это позволило нам сформировать цитологические типы, описывающие клеточный состав плевральной жидкости при плевритах реактивного и воспалительного характера. К ним относятся мезотелиально-лимфоцитарный, гранулоцитарно-клеточный и макрофагальный типы. Используемый поиск различий между неоднородными группами пациентов позволил с помощью дискриминантного анализа установить признаки, отличающие клеточный состав плеврального выпота (только с применением цитологических методик) при туберкулезе легких, плеврите при пневмонии и при плевральном выпоте у больных с сердечной недостаточностью (процент правильных классификаций составляет до 99,9%).

Основными критериями цитологической диагностики для плеврита туберкулезной этиологии является количество лимфоидных элементов, которое при подсчете в полях зрения составляет от 97 до 288; $242,4 \pm 45,30$ клеток. При плеврите, который развился после пневмонии, к таким признакам относится абсолютное число нейтрофильных гранулоцитов (от 125 до 234; $179,1 \pm 54,38$ клеток). У больных с плевральным выпотом при сердечной недостаточности критериями цитологической диагностики являются преобладание в процентном содержании количества клеток мезотелия (от 36 до 66; $51,7 \pm 15,0\%$ клеток) и присутствие многоядерных клеток. Проведение дискриминантного анализа с целью выявления различий между цитологическими данными в группах показало недостаточно высокую степень достоверности полученных результатов у больных с плевритами реактивного и паранеопластического характера (процент правильных классификаций – от 50 до 55%). В этих случаях дифференциальный диагноз должен быть построен на использовании иммуноцитохимических методик. Иммуноцитохимические исследования плевральной жидкости проведены у 100 больных паранеопластическим плевритом и 27 пациентов с плевритом реактивного характера.

Применение иммуноцитохимических исследований позволило нам дифференцировать клетки пролиферирующего мезотелия и клетки эпителиального происхождения (рака) с использованием всего двух антител (Mesothelial Cell Clone HBME-1 и Epithelial Antigen Clone Ber-EP4). Необходимость применять большее количество антител возникает при позитивной реакции на эпителиальный антиген (Epithelial Antigen Clone Ber-EP4) для определения типа и вида опухоли.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

В настоящей работе таких пациентов было 11 из группы больных с реактивным плевритом. Применение эпителиального антигена позволило установить клетки злокачественной природы при отсутствии других цитологических данных (клеточных скоплений и признаков неоплазии). Вероятность отнесения к группе больных с опухолевыми и неопухолевыми плевритами при дискриминантном анализе составила 99,9%. Опухолевые плевриты оценены у 913 пациентов (41,0%). На первом этапе диагностики использовали традиционный метод цитологической диагностики, во всех случаях были оценены клеточные признаки, характеризующие опухоль, проведён многофакторный анализ с указанием на наиболее значимые клеточные признаки.

Точность диагностики опухолевых плевритов при традиционной световой микроскопии, при которой не только констатация злокачественного процесса в плевральной полости, но и определение гистотипа и органопринадлежности клеток, составила (по результатам дискриминантного анализа) $57,6 \pm 23,94\%$. В 239 (26,2%) случаях возникла необходимость использования иммуноцитохимических исследований для уточнения первичного очага злокачественной опухоли.

Метастаз эпителиальной опухоли в плевральной жидкости с применением иммуноцитохимического метода установлен у 117 (32,0%) пациентов, эпителиоидная мезотелиома диагностирована у 97 (26,5%) больных, неэпителиальные опухоли – у 25 (6,8%) больных. С помощью дискриминантного анализа определены доли правильной цитологической диагностики при использовании иммуноцитохимического метода в процентах от числа наблюдений. Использование иммуноцитохимических исследований при изучении клеточного состава плевральной жидкости увеличивает возможность оценки морфологического типа опухоли и локализации ее первичного очага до $92,3 \pm 6,69\%$.

Панель иммуноцитохимических маркёров для дифференциальной диагностики клеточного состава плевральной жидкости должна состоять из мезотелиальных, эпителиальных, тканеспецифичных, лимфоидных и транскрипционных факторов (калретинин, мезотелин, тромбомодулин, маммаглобин, эпителиальный антиген, цитокератины 5/6, 7, 18, 20, эпителиальный мембранный антиген, карциноэмбриональные моно- и поликлональные антигены, виментин, CD15, CD45, TTF-1, WT1, CDX2), позволяющих отличить клетки мезотелия и гистиоциты-макрофаги от клеток метастазирующей опухоли и клеток злокачественной мезотелиомы.

Выводы.

1. Применение иммуноцитохимического метода при дифференциальной диагностике клеточного состава плевральной жидкости у больных реактивными и паранеопластическими плевритами значительно информативнее световой микроскопии – 99,9%, при световой микроскопии составляла 50,0 и 55,0% соответственно. Учитывая данное обстоятельство, мы рекомендуем использование мезотелина и эпителиального антигена (Mesothelial Cell Clone HBME-1 и Epithelial Antigen Clone Ber-EP4) для исключения карциноматоза в плевральной жидкости у больных реактивными и паранеопластическими плевритами.
2. Диагностическая информативность иммуноцитохимических методов в 92–99% случаев превышает информативность данных световой микроскопии.
3. Информативность цитологического метода исследования плевральной жидкости, несмотря на менее значимую диф-

ференциально-диагностическую ценность, не теряет своей роли и рекомендуется как обязательное исследование на первоначальном этапе проведения диагностического цитологического поиска.

Дифференциальная диагностика холангиокарцином внутрипеченочной локализации

Ищенко Р. В., Андреева М. А., Ищенко К. Б., Яковлева Е. В.

Место работы: Московский областной онкодиспансер, Московская область, г. Балашиха

e-mail: ishenkorv@rambler.ru

Цель. Выявить критерии дифференциальной морфологической диагностики холангиокарцином внутрипеченочной локализации.

Материалы и методы. Нами проведено сравнительное морфологическое изучение морфо и гистогенеза первичных злокачественных опухолей печени и карцином колоректального локализации с метастазами в печень с использованием современных загальногистологических, гистохимических, иммуногистохимических и морфометрических методов исследования. Предметом морфологического изучения послужили кусочки ткани опухоли, взятые путем пункционной – 415, трепанобиопсий – 408 и инцизиобиопсий 129.

Проводили иммуногистохимическое типирование тканей аденокарциномы толстой кишки и метастазов в печень, а также первичных опухолей в печень. Использовали мышиные моноклональные антитела (МКАТ) до цитокератинов: AE 1/AE 3, CK7, CK8, CK18, CK19 и CK20, также проводили иммуногистохимическое типирование с МАТ анти-Нер Par 1 и альфа-фетопротеина, анти-villin 1, vimentin и Cam5.2.

Результаты. Проводя сравнительный анализ качественных и количественных морфологических и молекулярно-биологических отличий ГЦК и ХЦК, следует отметить, что имеются достоверные отличия в степени развития МГЦР этих типов опухолей печени: в ГЦК удельный объем микрососудов (Vv) колеблется в широких пределах от $0,215 \pm 0,039$ и до $0,363 \pm 0,074$. Средний показатель Vv в ГЦК составляет $0,282 \pm 0,091$. Vv микрососудов в ХЦК низкой степени дифференцировки не превышает $0,126 \pm 0,028$. Таким образом, Vv ХЦК достоверно ($p \leq 0,005$), практически более чем в 2 раза, превышает Vv в ГЦК, что может служить одним из диагностических критериев при дифференциальной диагностике ХЦК, нодулярной гиперплазии, гепатоаденомы, с одной стороны, и ХЦК, с другой.

Заключение. В результате исследований выявлено, что для ХЦК патогномичным является обнаружение выраженной положительной иммунореактивности с антителами к villin (иммуногистохимическое типирование с МКАТ анти-villin 1). Вторым важным маркером ХЦК является экспрессия клетками СК19.

Экспрессия СК 19 характерна для эпителия желчных протоков в норме и сохраняется в опухолях билиарного гистогенеза. СК19 принадлежит к кислому типу цитокератинов и является цитокератином с низкой молекулярной массой. СК19 экспрессируется в простых эпителиях. Мембранное и цитоплазматическое окрашивание СК 19 обнаружено в 71,7% ХЦК, в ГЦК – 1,3%. Несмотря на то, что маркер билиарной дифференцировки СК19 может изредка встречаться в ГЦК, но его экспрессия характерна для ХЦК. Специфичность и чувствительность СК 19 для ХЦК является достаточно высокой.

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

Опыт определения мутаций гена EGFR на цитологическом материале при аденогенном раке лёгкого в алтайском краевом онкологическом диспансере

Пупкова Е. Э., Григорук О. Г., Авдалян А. М., Лазарев А. Ф.

Место работы: КГБУЗ АКОД

e-mail: elenapupkova@yandex.ru

Известно, что у большинства больных с диагнозом рак легкого на момент обращения к онкологу диагностируется местнораспространенный или диссеминированный процесс, что исключает использование хирургии в качестве начального терапевтического варианта у значительного числа пациентов. В этом случае персонализированный подход к выбору лекарственного лечения становится первоочередной задачей. При этом доступным биологическим материалом для исследования являются только малые биопсийные и/или цитологические образцы.

Цель исследования. Изучить особенности выделения ДНК из цитологического материала и сопоставить информативность цитологического и гистологического материала для молекулярного исследования мутаций гена EGFR.

Материалы и методы. Для исследования статуса гена EGFR отобраны 46 пациентов с цитологическим диагнозом аденокарцинома лёгкого, проходивших лечение в КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» в 2014–2015 г.г. Из них у 20 (43,8%) пациентов уже имелись результаты исследования методом аллель-специфичной ПЦР, проведённых на гистологическом материале. В остальных 26 (56,2%) случаях для молекулярно-генетического исследования был доступен только цитологический материал.

В цитологических препаратах оценивалось количество опухолевых клеток (не менее 200) и их процентное соотношение с остальным клеточным материалом (Consensus for EGFR mutation testing in NSCLC. Results of European Workshop, J Thor Onc 2010). Отобранные комплексы клеток опухоли на стеклопрепарате отмечались маркером. Клеточный материал растворялся каплей лизирующего раствора и отбирался пипеткой в пробирку типа Эппендорф. При выделении ДНК с цитологических препаратов, окрашенных по методу Паппенгейма, использовали набор «QIAamp DNA Mini Kit» QIAGEN (Германия). Из гистологического материала ДНК выделялась с применением этого же набора по стандартным протоколам. Очистку нуклеиновых кислот проводили в автоматическом режиме на станции QIAcube. Определение мутаций в гене EGFR осуществлялось методом аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени с помощью набора EGFR RGQ PCR Kit (Германия) на приборе CFX-96 (Bio-Rad). Полученные результаты исследования статуса гена EGFR с цитологического материала сопоставлены с результатами аллель-специфичной ПЦР с гистологического материала.

Результаты исследования. Проведено ретроспективное молекулярно-генетическое исследование цитологического материала у 46 пациентов с аденокарциномой лёгкого в возрасте от 43 до 77 лет. Среди них было 27 мужчин, 19 женщин. Количество опухолевых клеток в исследуемых образцах составляло от 10% до 90% всего клеточного состава препарата в абсолютном количестве – от 100 до 400 клеток.

В результате выделения ДНК клеток опухоли из цитологических препаратов было получено достаточное для ПЦР-исследования количество генетического материала. Концентрация выделенной ДНК оценивалась в контрольной ПЦР-реакции.

В 8 из 20 случаев обнаружены мутации гена EGFR, что составило 40%. Высокая частота встречаемости мутированного гена EGFR объясняется направленным отбором пациентов в группу исследования с известным статусом гена с целью отработки методики. Отмечено совпадение выявленных изменений гена EGFR в группе пациентов, имеющих гистологический и цитологический материал, в 18 из 20 случаев, что составило 90%. В двух случаях (10%) получен ложноотрицательный результат на цитологическом материале, что объясняется низким (10%) содержанием клеток опухоли в препаратах.

В группе пациентов, у которых был доступен только цитологический материал, в двух (7,7%) случаях выявлены активирующие мутации в гене EGFR. Тем самым для этих пациентов расширились возможности для получения персонализированного лечения таргетными препаратами.

Выводы.

1. цитологический материал при стандартных методиках выделения ДНК является достаточным для тестирования EGFR-мутаций у пациентов с НМРЛ;
2. воспроизводимость полученных результатов на цитологическом материале составила 90 процентов;
3. определение EGFR-мутаций на цитологическом материале оправдано пациентам с местнораспространенным или диссеминированным процессом, у которых цитологический материал является единственно доступным морфологическим материалом для исследования.

Роль белка промежуточных филаментов виментина в развитии регионарных метастазов при инвазивном дольковом раке молочной железы

Засадкевич Ю. М., Бриллиант А. А., Сазонов С. В.

Место работы: ГАУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий

e-mail: yulkat@bk.ru

Введение. Экспрессия белка промежуточных филаментов виментина, характерного для клеток мезенхимального происхождения, в клетках молочной железы связана с некоторыми особенностями эмбрионального развития молочной железы и клеточной дифференцировкой. В ткани молочной железы экспрессия виментина обнаруживается в миоэпителиальных клетках. Появление экспрессии данного белка опухолевыми клетками является признаком реализации эпителиально-мезенхимального перехода, отражающего финальный шаг опухолевой дедифференцировки, который ассоциируется с высоким инвазивным потенциалом опухолевых клеток.

Цель исследования. Изучить экспрессию виментина в группах с различными стадиями регионарного метастазирования (N) инвазивного долькового рака молочной железы (РМЖ).

Материал и методы. В исследование вошло 208 случаев инвазивного долькового рака молочной железы. Из них, 127 случаев (61%) относились к стадии N0, 56 случаев (27%) – к стадии N1, 25 случаев (12%) – к стадии N2. К стадии N3 не относилось ни одного случая. Исследование проводилось иммуногистохимическим методом. Для определения экспрессии виментина использовались мышинные моноклональные анти-свиные антитела Vimentin (Clone V9, DAKO, Дания). Экспрессия виментина оценивалась как положительная при позитивном цитоплазматическом окрашивании >1% опухолевых клеток.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Результаты. Была изучена экспрессия виментина при инвазивном дольковом раке молочной железы. Были получены следующие результаты: в общей группе исследования определялась экспрессия виментина в 146 (70%) случаях, в группе инвазивного долькового рака молочной железы со стадией регионарного метастазирования N0 – в 89 (70%) случаях, со стадией N1 – в 55 (68%) случаях, со стадией N2 – в 21 (84%) случае.

При сравнении с общей группой исследования, не выявлено достоверных различий в экспрессии виментина в группе исследования со стадией регионарного метастазирования N0 и N1 ($p > 0,05$). Экспрессия виментина в группе со стадией регионарного метастазирования N2 выявлялась достоверно чаще, чем во всех остальных группах исследования – на 14% ($p < 0,05$) по сравнению с общей группой исследования, а также с группой случаев со стадией регионарного метастазирования N0, и на 16% ($p < 0,05$) по сравнению с группой случаев со стадией регионарного метастазирования N1.

Заключение. Виментин экспрессируется в цитоплазме большинства клеток инвазивного долькового рака молочной железы. Данная особенность является проявлением эпителиально-мезенхимального перехода, для которого характерно приобретение опухолевыми клетками свойств, характерных для клеток мезенхимального происхождения, обеспечивающих им способность к подвижности и миграции. Увеличение экспрессии виментина связано с развитием процесса метастазирования.

Избирательная цитотоксическая активность катионных пептидов с дендримерной структурой: возможная роль нуклеолина и белка-супрессора p53

Лушникова А.А.¹, Морозова Л.Ф.¹, Андреев С.М.², Цыганова И.В.¹, Понкратова Д.А.¹, Абрамов И.С.³, Балбуцкий А.В.¹, Мазуренко Н.Н.¹

Место работы: 1. ФГБУ «РОНЦ им.Н.Н.Блохина» Минздрава России; 2. ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России; 3. Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН
e-mail: LAN21@yandex.ru

Введение. Многие злокачественные опухоли человека с отделенными метастазами и поздними сроками манифестации заболевания, например меланома кожи (МК), устойчивы к большинству существующих методов лечения. На долю меланомы кожи приходится 80% летальных исходов от злокачественных новообразований кожи, а частота заболеваемости меланомой за последние 10 лет увеличилась на 25%. Разработка молекулярно нацеленных препаратов с высокой противоопухолевой активностью и низкой токсичностью для нормальных клеток позволила бы усовершенствовать лечение больных с метастатическим поражением, а также избежать выраженной токсичности и других побочных эффектов таргетной терапии. Поэтому использование для молекулярно направленной терапии МК и ряда других опухолей новых катионных дендримерных пептидов (ДП), которые легко синтезировать и модифицировать, представляется перспективным. Такие пептиды, как правило, малотоксичны, устойчивы к внутриклеточной деструкции, способны проникать через клеточные мембраны и могут взаимодействовать как с поверхностными, так и с внутриклеточными молекулами-мишенями, снижая пролиферативную активность опухолевых клеток и/или

индуцируя их апоптоз. Также они могут использоваться для внутриклеточного транспорта ДНК, РНК и других биомолекул в форме дендриплексов. Одной из предполагаемых мишеней для ДП являются молекулы рецепторного нуклеолина (С23), гиперэкспрессируемые на мембранах опухолевых клеток при многих неоплазиях, включая МК. Многофункциональный шаперон С23- маркер клеточной пролиферации, который играет ключевую роль в регуляции важнейших клеточных функций и рассматривается в последнее время как мишень для доставки в клетки химиотерапевтических препаратов, неинвазивной диагностики рака, а также тканеспецифичного ингибирования опухолей желудка, кожи, эндометрия, рака молочной железы и ряда других нозологий

Цель. Изучение противоопухолевой активности катионных пептидов на модельных клеточных линиях МК.

Материалы и методы. Перевиваемые клеточные линии МК человека mH 275 и mIS223 культивировали в стандартных условиях, динамику пролиферации анализировали на 1-, 2- и 3-суточных культурах. Токсичность 12-ти ДП, линейных пептидов и липопептидов изучали с помощью стандартного МТТ-теста на 96-луночных планшетах (объем лунки 200 мкл) с интервалом 1, 2 и 3 суток культивирования клеток в присутствии пептида в концентрациях от 0,25 мкг/мл до 8 мкг/мл. Токсичным считали пептидный препарат, снижающий оптическую плотность в МТТ-тесте на 50% по отношению к клеткам, культивируемым без пептида. В качестве контроля использовали нормальные фибробласты перевиваемой линии H1036, любезно предоставленные д.б.н. А.Ю. Александровой (РОНЦ им. Н.Н. Блохина).

Структуру и экспрессию гена NCL, кодирующего С23, анализировали с помощью специфичных ПЦР на матрице ДНК культивируемых клеток с последующим электрофорезом в ПААГе и ОТ ПЦР на матрице мРНК клеток, мутации онкогенов BRAF и NRAS – в ПЦР с последующим секвенированием ампликонов; мутации гена TP 53 – с помощью секвенирования 5, 6, 7, 8, 9 и 10-го экзонов этого гена, амплифицированных на микрочипе.

Результаты. ПЦР-анализ выявил в обеих клеточных линиях МК мутации BRAF V600E (экзон 15) в сочетании с полиморфным вариантом в экзоне 3 гена NCL (pE149E, линия mH275). Известных мутаций в гене TP53 не обнаружено. Анализ экспрессии С23 и p53 в клетках указанных линий МК до инкубации их с пептидами выявил повышенный в 8,5 раз по сравнению с нормальными клетками уровень экспрессии гена NCL и сниженный в 2,8 раза – уровень экспрессии TP53.

Из 12-ти проанализированных на токсичность и противоопухолевую активность пептидов было отобрано 4 – все с дендримерной структурой, которые ингибировали клеточную пролиферацию с активацией апоптоза в концентрациях от 0,5 мкг/мл (разведение 1:64) до 4 мкг/мл (1:8), однако без видимой токсичности в МТТ-тесте для нормальных фибробластов кожи (контрольная линия). Напротив, пептиды с линейной структурой молекулы или липопептиды в аналогичных экспериментальных условиях не ингибировали клеточную пролиферацию и не индуцировали апоптоз, а в ряде случаев стимулировали жизнеспособность опухолевых клеток в модельных культурах.

Один из возможных механизмов избирательного цитотоксического действия отобранных катионных дендримеров – их взаимодействие с рецепторными молекулами С23, которые высоко экспрессированы на мембране опухолевых клеток,

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

а також з цитоплазматическою і ядерною фракціями C23 після транспорту молекул пептида в клітки. В результаті інгібується гіперактивований C23-залежний сигналінг і зв'язування C23 з p53, що приводить до індукції апоптозу, регульованого p53.

Поскольку в нормальних фібробластах рівень експресії рецепторного C23 значно нижче, активації вільного p53 і наступної індукції апоптозу не спостерігається. Для пошуку механізмів избирательной цитотоксичности досліджуваних катіонних ДП проводиться подальший аналіз взаємодії цих і інших пептидів з білками C23 і p53 в опухольових (МК) і в нормальних нетрансформованих клітках.

Висновок. С допомогою МТТ-тесту на 2-х перевидаваних лініях МК людини, несущих мутацію BRAF V600E, виявлено специфічну цитотоксическую активність 4-х катіонних пептидів з дендримерною структурою. В культурі морфологически нормальних фібробластів індукційованих цими пептидами апоптозу не виявлено.

Пептиди з лінійною структурою і липопептиди в аналогічних експериментальних умовах не інгібували проліферацію кліток меланоми або навіть стимулювали їх життєспроможність. Досліджуються можливі механізми протипухольової активності ДП з участю шаперону C23 і білка-супресора пухольового росту p53.

Експресія TGFβ і його рецептора в запальній інфільтраті пухли при різних молекулярно-генетических типах раку молочної залози

Савельєва О. Е.^{1,2}, Зав'ялова М. В.^{1,2,3}, Таширева Л. А.^{1,3}, Телегіна Н. С.³, Ісаєва А. В.¹, Перельмутер В. М.^{1,3}

Місце роботи: 1. Томський НІІ онкології, г. Томськ; 2. НІ Томський державний університет, г. Томськ; 3. Сибірський державний медический університет, г. Томськ; 4. НІ Томський політехніческий університет, г. Томськ

e-mail: olga_chechina@mail.ru

Ціль. Оцінка експресії TGFβ і його рецептора в клітках запального інфільтрату пухли при різних молекулярно-генетических типах раку молочної залози.

Матеріал і методи. В дослідження були включені 163 хворих інвазивною карциномою молочної залози не специфіческого типу (T1–4N0–3M0) в віці від 21 до 80 років, середній вік склав 55,9±11,1 років. На основі співвідношення експресії рецепторів до естрогенів, прогестерону, HER2/neu статусу і Ki67 пацієнти були розділені на чотири групи: 1 – пацієнти з люмінальним А молекулярно-генетическим типом РМЖ (n=101), 2 – пацієнти з люмінальним В типом (n=23), 3 – пацієнти з трипл-негативним типом (n=25), 4 – пацієнти з гіперекспресією HER2/neu (n=14).

Передопераційного лікування хворі не отримували. Всім хворим проводилася операція в розмірі радикальної мастектомії або секторальної резекції молочної залози. Зразки тканин фіксувалися в 10% нейтральному формаліні. Матеріал оброблявся за стандартної методики і заливався в парафін. Морфологическое дослідження операційного матеріалу здійснювалось за стандартної методики з використанням світлового мікроскопа «CarlZeissAxio Lab.A1».

Оцінка експресії TGFβ і TGFβ-R проводилася з допомогою імуногістохіміческою фарбування з допомогою антител фірми «Dako» до TGFβ (клон TGFβ17, робоче розведення 1:40) і TGFβ-R (клон 8A11, робоче розведення 1:50). Отримані результати оцінювались через 5 років. Статистическая обробка проводилася з використанням пакету програм «Statistica 6.0 for Windows». Перевірка на відповідність нормальному закону розподілу проводилася з використанням критерію Шапіро-Уїлка. Для перевірки гіпотези застосовувалися критерії Краскала-Уоліса. Результати вважались достовірними при p < 0,05.

Результати. Наше уваження було сконцентровано на дослідженні особливостей експресії трансформуючого фактора росту β і його рецептора в клітках запального інфільтрату пухли у пацієнтів з люмінальним А, люмінальним В, трипл-негативним молекулярно-генетическими типами раку молочної залози, а також у пацієнтів з гіперекспресією HER2/neu. Частота випадків з позитивною експресією трансформуючого фактора росту β і його рецептора в клітках запального інфільтрату пухли не відрізнялася в групах хворих з різними молекулярно-генетическими типами раку. Інші результати були отримані при дослідженні частоти експресії TGFβ в клітках.

Так, при раку молочної залози з гіперекспресією HER2/neu в запальному інфільтраті пухли виявлявся вищий відсоток кліток з експресією TGFβ, в порівнянні з іншими молекулярно-генетическими типами. Відсоток кліток, експресуючих рецептори до трансформуючого фактора росту, в запальному інфільтраті пухли не відрізнявся в досліджуваних групах. Крім того при раку молочної залози з гіперекспресією HER2/neu відзначалася найбільша частота лімфогенного метастазування.

Висновок. Поскольку TGFβ бере участь в запальних реакціях в тканині пухли, представляє собою один з основних індукторів епітеліально-мезенхімального переходу, ведучого до набуттю пухольовими клітками локомоторного фенотипу, сприяючи тим самим процесам метастазування. Виявлений нами вищий відсоток експресії TGFβ при раку молочної залози з гіперекспресією HER2/neu, ймовірно, є однією з причин найбільшої частоти лімфогенного метастазування у даної категорії хворих.

Аномальне метилювання генів MGMT, CDH1, p16/ CDKN2A, DAPK і RAR-β, як можливий маркер онкологическої прогресії шлункової Барретта

Осминин С. В., Кашеваров С. Б., Ветшев Ф. П., Д. І. Вачнадзе, Хоробрих Т. В., Немцова М. В.

Місце роботи: Перший МГМУ ім. І. М. Сеченова

e-mail: dr.osminin@gmail.com

Ціль. Дослідити аномальне метилювання генів MGMT, CDH1, p16/ CDKN2A, DAPK і RAR-β в зміненому і незміненому епітелії хворих шлунком Барретта (ПБ) і аденокарциномою шлункової (АК), для формування панелі можливих молекулярно-генетических маркерів онкологическої прогресії.

Матеріали і методи. Аномальне метилювання генів MGMT, CDH1, p16, DAPK і RAR-β досліджували в зразках слизової оболонки шлункової у 73 пацієнтів, проходивших

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

оперативное лечение в клинике факультетской хирургии им. Н. Н. Бурденко Первого МГМУ им. И. М. Сеченова по поводу рефлюкс-эзофагита, осложненного пищеводом Барретта (59 больных) и АК пищевода (14 больных).

Больным ПБ при эндоскопическом исследовании до и после операционного лечения выполняли четырех-квadrантную биопсию из участков визуально измененной и нормальной слизистой оболочки дистальных отделов пищевода. По результатам гистологического исследования образцов ткани у 27 определяли метаплазию эпителия, у 32 больных – дисплазию, у 14 пациентов – АК пищевода. Исследование метилирования генов проводилось на ДНК, полученной из измененного и неизмененного эпителия пациента, методами метил-чувствительной и метил-специфичной ПЦР.

Пациентам с ПБ выполняли антирефлюксную операцию по принятой в клинике методике. В последующем осуществляли контроль отдаленных результатов в сроки от 6 до 54 месяцев после хирургического вмешательства включавший эзофагогастродуоденоскопию с биопсией, рентгенологическое исследование пищевода, желудка и 12-ти перстной кишки, оценку качества жизни (анкеты GSRS и SF36). Больным АК пищевода проводили трансторакальную или трансиатальную, в зависимости от локализации опухоли, экстирпацию пищевода с одномоментной пластикой желудочной трубкой с лимфаденэктомией 2S или 2F.

Результаты. Пациенты, имеющие аномальное метилирование хотя бы одного гена из исследуемой системы, составили группу мет+. Аномальное метилирование обнаружили в измененном эпителии больных ПБ в 28/59 (48%) образцах, из них в 18/32 (64%) образцах у пациентов с дисплазией и 10/27 (36%) образцах у пациентов с метаплазией слизистой. В двух случаях аномальное метилирование выявлено как в измененном, так и морфологически нормальном эпителии. У пациентов с АК метилирование выявили в 9/14 (65%) опухолевых образцах.

У больных с ПБ на фоне метаплазии эпителия обнаружили метилирование генов: CDH1 в 80%, p16/ CDKN2A в 60%, MGMT в 40%, метилирования RAR и DAPK не обнаружено. У пациентов с ПБ на фоне дисплазии слизистой пищевода наблюдали метилирование генов: MGMT в 72%, CDH1 в 39%, p16/ CDKN2A в 22%, RAR в 16% и DAPK в 8%. При АК пищевода выявили метилирование генов: p16/ CDKN2A в 36%, MGMT в 21%, CDH1 в 21%, DAPK в 14% и в RAR – не выявлено.

Заключение. Полученные данные об аномальном метилировании генов при метаплазии и дисплазии эпителия пищевода при ПБ, позволяют сформировать систему маркеров онкологической прогрессии, метаплазия-дисплазия-аденокарцинома у больных. Создание такой системы маркеров, определяемых в биоптатах слизистой пищевода, позволит выявить, начать адекватное лечение и осуществлять мониторинг больных ПБ, с целью формирования группы риска развития АК пищевода.

Исследование генетических мутаций и полиморфизмов при раке желудка методом высокопроизводительного параллельного секвенирования ДНК

Кириллова К. И.^{1,2}, Быков И. И.³, Танас А. С.^{1,2}, Немцова М. В.^{1,4}, Стрельников В. В.^{1,2}

Место работы: 1. ФГБНУ «МГНЦ»; 2. ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России; 3. ГБОУ ВПО Первый

МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России; 4. ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России

e-mail: vstrel@list.ru

Цель работы. Выявление новых мутаций и полиморфизмов в генах, вовлеченных в канцерогенез, у больных раком желудка, как генетических факторов предрасположенности к развитию опухоли.

Материалы и методы. От 50 больных с местнораспространенным раком желудка (РЖ) в возрасте от 35–59 лет получены образцы опухолевой ткани, морфологически неизмененной мукозы и венозной крови. Поиск мутаций в 52 генах, вовлеченных в канцерогенез, проводили высокопроизводительным параллельным секвенированием ДНК на платформе IonTorrent PGM (LifeTechnologies). Для валидации обнаруженных мутаций (исключения артефактов геномного секвенирования) использовали метод секвенирования по Сэнгеру на автоматическом генетическом анализаторе ABI PRISM 3100 (LifeTechnologies). Определение герминального или соматического характера выявленных мутаций проводили секвенированием ДНК нормальных тканей.

В настоящем исследовании за частый полиморфизм принимается генетический вариант, частота встречаемости минорного аллеля которого в ранее изученной общей популяции составляет более 1%, за редкий полиморфизм – генетический вариант с частотой минорного аллеля в общей популяции менее 1%. Мутацией считается ранее неопубликованный генетический вариант, либо вариант, упоминающийся в базах данных как единичное наблюдение.

Результаты. Наиболее часто соматические мутации выявлялись в генах: TP53 (p.R116W), (p.E298X), (p.R26H), (p.R248Q), (p.V41L), (p.G113D), (p.A86fs), (p.H179R), (p.I100T), (p.R273H), CDH1 (c.-71C>G), (p.K182N), (p.T303P), (p.S838G), (c.1320+2T>G), PIK3CA (p.K111E), (p.E545K), (p.H1047R), STK11 (p.M289K), (c.-311C>T), (c.-127T>C), (p.S283fs), SMAD (p.V158A), (p.R445X).

В других генах, вовлеченных в канцерогенез, мутации обнаружены в единичных случаях: ATM (p.S1691R), CDKN2A (p.R103W), FBXW7 (p.R387C), PTEN, (p.L265fs), FGFR3 (p.F348L), EGFR (p.V292M), SMO (p.W206X), KRAS (p.G12D), NOTCH (c.5019–50G>A), MET (p.N375S) и RB1 (p.H686N). Герминальный характер мутаций в генах MET (p.N375S) и RB1 (p.H686N) подтвержден у двух пациентов.

Частые полиморфизмы обнаружены в генах: KDR (p.Q472H) – в 52%, KIT (p.M541L) – в 10%, KIT (p.M373L) – в 6% и MET (p.S178S) – в 6% случаев. Редкие полиморфизмы в генах: MET (p.R970C), JAK3 (p.V722I), RET (p.S649L), APC (p.P1442P), (p.I1289K), ATM (p.F858L), RB1 (p.L564F), CDKN2A (p.D86N), (p.T992I) выявлены в единичных случаях.

Заключение. До недавнего времени единственной наследственной формой РЖ считался наследственный диффузный рак, составляющий примерно 1–3% всех случаев. К развитию этой формы рака приводят герминальные мутации в гене CDH1(16q22.1). Нами выявлены новые мутации CDH1 в исследованной выборке пациентов.

Существование значительного количества семейных случаев РЖ, не связанных с мутациями в CDH1, позволяет предположить существование герминальных мутаций в других генах, которые объясняют семейное накопление. Выявление и характеристика таких мутаций необходимы для выявления носителей и совершенствования медико-генетического консультирования семей с накоплением случаев РЖ.

МОЛЕКУЛЯРНА БІОЛОГІЯ І ПАТОМОРФОЛОГІЯ

В настоящее время нами проводится работа по выявлению соматического или герминального характера обнаруженных мутаций в генах TP53, CDH1, PIK3CA, STK11, SMAD, ATM, CDKN2A, FBXW7, PTEN, FGFR3, EGFR, SMO, KRAS и NOTCH. Уже выявленные в настоящем исследовании герминальные мутации в генах MET (p.N375S) и RB1 (p.H686N) у больных РЖ требуют дальнейшего изучения с точки зрения их влияния на риск развития заболевания.

Частый полиморфизм в гене KDR (p.Q472H), с популяционной частотой минорного аллеля 21%, в исследованной нами выборке больных РЖ имеет значительное повышение частоты до 52%, что позволяет рассматривать его в качестве генетического фактора повышенного риска развития заболевания. Сегодня, при проведении исследований с использованием полногеномного секвенирования выявляют огромное количество мутаций в генах, ассоциированных с опухолеобразованием. Однозначной стратегии интерпретации этих мутаций и полиморфизмов не существует. Выявление таких генетических вариантов у лиц без онкологической патологии может не снижать их патогенного значения, а напротив, переводить этих индивидуумов в группу повышенного риска развития опухоли.

Использование свободно циркулирующей ДНК крови как биомаркера метастазирования

Паневина А.В.¹, Горбачева Т.М.¹, Солодских С.А.¹, Башмаков В.Ю.¹, Ащеулов А.Ю.³, Михайлов А.А.^{1,2}, Мошуров И.П.², Маслов А.Ю.¹, Попов В.Н.¹

Место работы: 1. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежский государственный университет»; 2. Бюджетное учреждение здравоохранения Воронежской области «Воронежский областной клинический онкологический диспансер»

e-mail: anna-panevina@yandex.ru

Целью выполнения исследования является разработка методических подходов для персонализированной ранней диагностики образования метастазов первичной опухоли и создание технологии производства индивидуального диагностического теста для максимально доступного, экономически приемлемого и неинвазивного мониторинга развития метастазов опухоли на основе анализа нектоточной свободно циркулирующей ДНК крови пациента

Материалы и методы. Объектами исследования являлись 4 пациента Воронежского областного клинического онкологического диспансера в возрасте от 50 до 75 лет с гистологически подтвержденным светлоклеточным ПКР.

гДНК и сДНК выделялась из биоматериала (ткань почки и кровь) при помощи наборов реагентов Zymo Research QuickgDNA MiniPrep и QIAamp Circulating Nucleic Acid, соответственно. Для секвенирования исходного образца (опухоли) использован секвенатор производства фирмы Life Technologies (США) Ion Torrent PGM и набор праймеров Comprehensive Cancer Panel для целевого ресеквенирования кодирующих последовательностей (экзонов) наиболее значимых онкогенов и первичного анализа генетического материала опухоли. Последовательности ДНК из опухолевого образца почки сравнивались с ДНК из здоровой ткани для установления индивидуального профиля соматических перестроек, характерных только для данного пациента и данной опухоли. Далее нами разрабатывался персонализированный набор

праймеров для проведения количественной полимеразной цепной реакции для определения концентрации опухолевой ДНК, т.е. фрагментов ДНК, несущих характеристические мутации в нектоточной свободно циркулирующей ДНК крови. При помощи аллель-специфической-ПЦР оценивалась мутационная нагрузка и вероятность наличия метастазов.

Результаты. Разработаны методика определения мутаций ДНК как биомаркеров для систематического мониторинга сДНК пациента с целью ранней диагностики метастазирования и/или рецидива опухоли, методика дизайна комплекта ПЦР праймеров, проведены испытания экспериментальных образцов набора реагентов для персонализированной диагностики, разработан программный комплекс анализа результатов секвенирования ДНК и дизайна праймеров.

Заключение. Послеоперационный мониторинг производится с помощью методик, не позволяющих своевременно выявить начало метастазирования. Предлагаемая методика анализа позволит резко снизить смертность от метастазов среди больных, прошедших курс лечения, и продолжающих отслеживать состояние заболевания после операции.

Данные, полученные в результате исследования, позволяют сделать вывод о Исследование поддержано грантом Министерства образования и науки Российской Федерации № 14.547.21.0027 (уникальный идентификатор проекта RFMEFI57414X0027).

Комплексный анализ статуса метилирования генов белков экстрацеллюлярного матрикса и трансмембранных молекул в норме и при раке молочной железы

Симонова О.А.¹, Кузнецова Е.Б.¹, Поддубская Е.В.², Стрельников В.В.¹, Танас А.С.¹, Руденко В.В.¹, Залетаев Д.В.^{1,3}

Место работы: 1. ФГБНУ «МГНЦ», г. Москва;

2. ФГБНУ «РОНЦ им.Н.Н.Блохина», г. Москва; 3. ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, г. Москва

e-mail: simonova_o.a@mail.ru

Цель работы. Определение статуса метилирования генов субъединиц ламининов (LAMA1, LAMA2, LAMA3A, LAMA3B, LAMA4, LAMA5, LAMB1, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, LAMC3), 8 интегринов (ITGA1, ITGA2, ITGA3, ITGA4, ITGA6, ITGA7, ITGA9, ITGB1), 2 нидогенов (NID1, NID2), 2 генов кадгериннов (CDH2, CDH3), дистрогликана DAG1, а так же 9 генов матриксных металлопротеиназ (MMP2, MMP14, MMP15, MMP16, MMP17, MMP21, MMP23B, MMP24, MMP28) и TIMP3 – тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ 3 для выявления потенциальных маркеров канцерогенеза.

Материалы и методы. Основным методом работы являлась МЧ-ПЦР с последующей верификацией полученных данных при помощи бисульфитного секвенирования. Материалом исследования послужили 194 парных образца опухоли и условно нормальной ткани молочной железы, а так же 6 аутопсийных образцов нормальной молочной железы.

Результаты. Промоторные регионы 15 генов, LAMA1, LAMA2, LAMB1, ITGA1, ITGA4, ITGA7, ITGA9, NID1, NID2, CDH2, CDH3, MMP2, MMP23B, MMP24, MMP28 могут подвергаться аномальному метилированию с частотами 29,4% (50/170), 25,8% (48/186), 28,5% (51/179), 15,2% (29/190), 29,8% (58/194), 3,1% (6/190), 38,9% (74/190), 36,2% (63/174), 38,7% (71/183),

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

7,7% (14/181), 33,3% (61/183), 3,2% (2/63), 14,3% (9/63), 9,3% (5/54) и 1,5% (1/63) соответственно при раке молочной железы. Метилирования данных регионов в аутопсийных образцах молочной железы выявлено не было.

Кроме того, нами показано, что промоторные регионы LAMA3A, LAMB2, LAMB3, LAMC2, MMP14, MMP21 конститутивно метилированы в ткани молочной железы.

Заключение. Трансмембранные клеточные рецепторы, а также компоненты внеклеточного матрикса играют фундаментальную роль в регуляции жизнедеятельности клеток и обеспечивают их согласованную интеграцию в структуры тканей. Изменение экспрессии интегринов, кадгеринов, ламининов, нидогенов и металлопротеиназ было зафиксировано в опухолях различного типа. К сожалению, причины, лежащие в основе данных событий, являются малоизученными.

Одним из механизмов запуска злокачественного процесса является инактивация генов-супрессоров опухолевого роста. Таким инактивирующим событием может служить метилирование CpG-островков в промоторных областях генов-супрессоров. Нами впервые было проведено комплексное исследование статуса метилирования разнообразных белков экстрацеллюлярного матрикса и трансмембранных молекул, участвующих в регуляции клеточного цикла, процессах адгезии и миграции.

По итогам выявлена группа генов (LAMA1, LAMA2, LAMB1, ITGA1, ITGA4, ITGA7, ITGA9, NID1, NID2, CDH2, CDH3, MMP2, MMP23B, MMP24, MMP28), подвергающихся аномальному метилированию при раке молочной железы. Учитывая разнообразие функций, опосредуемых продуктами данных генов, возможно предположить их вовлечение в процесс опухолевой трансформации, инвазии и метастазирования.

Анализ динамики мутаций в гене EGFR в цДНК при распространенном немелкоклеточном раке легкого на фоне терапии гефитинибом

Сакаева Д. Д.¹, Гордиев М. Г.², Блохина М. Е.³

Место работы: 1. ГБУЗ РКОД МЗ РБ г. Уфа; 2. ГАУЗ РКОД МЗ РТ, г. Казань; 3. ООО «АстраЗенека Фармасьютикалз»
e-mail: d_sakaeva@mail.ru

Цель. Наличие активирующих мутаций в гене EGFR является прогностическим маркером чувствительности НМРЛ к таргетной терапии ИТК. В настоящее время возможно определение в плазме как активирующих мутаций в 19–21 экзоне так и мутации Т 790М в 20 экзоне гена EGFR, являющейся маркером рефрактерности к ИТК. Динамика изменения молекулярного статуса опухоли при НМРЛ на фоне таргетной терапии малоизучена.

Целью данного исследования является выявление корреляции между эффективностью Гефитиниба и динамикой мутаций EGFR (del19, L858R и Т 790М) в плазме пациентов с распространенным НМРЛ.

Материалы и методы. Исследование проведено на базе ГБУЗ РКОД МЗ РБ и ГАУЗ РКОД МЗ РТ с декабря 2013 г. по март 2015 г. Для определения мутаций в гене EGFR (делеции 19 экзона, мутаций L858R, Т790М) в парафин-фиксированной ткани применялся набор «Therascreen EGFR RGQ PCR Kit (24)», определения мутаций в гене EGFR (делеции 19 экзона, мутаций L858R, Т790М) в плазме применялась аллель-специфическая ПЦР с рядом модификаций – TaqMan-LNA. В исследование были включены 43 пациента с распространенным

НМРЛ, получающих терапию гефитинибом в первой или второй линии. У больных перед началом каждого курса терапии брали плазму крови для определения del19, L858R и Т 790М в гене EGFR.

Оценка эффективности терапии проводилась с использованием стандартных методов (КТ, УЗИ, ОАК, ОАМ) каждые 2 месяца. Анализ проведен в 3 группах пациентов: 1ая (n=15)-пациенты, включенные в анализ до начала таргетной терапии гефитинибом в первой линии, 2ая (n=14)-пациенты, включенные в анализ на фоне приема гефитиниба в первой или второй линии терапии, 3я (n=6) пациенты, включенные в анализ до начала приема гефитиниба во второй линии терапии при наличии активирующей мутации EGFR в плазме.

Характеристика больных первой группы: n= 15, мужчин 5, женщин 10, медиана возраста 63,1 лет (52–76 лет), у всех IV стадия, аденокарцинома, распределение мутаций в гистологическом материале del19 8 (53%), L858R 7 (43%), Т790М 0 (0%), мутации в плазме до начала терапии del19 6 (40%), L858R 7 (43%), Т790М 0 (0%), отрицательно 2 (13%).

Характеристика больных второй группы: n= 14, мужчин 4, женщин 10, медиана возраста 60,2 года (44–77 лет), у всех IV стадия, гистологический вариант аденокарцинома, распределение мутаций в гистологическом материале del19 5 (36%), L858R 1 (57%), Т790М 3 (21%), неизвестный статус мутации 8 (57%), мутации в плазме до начала терапии неизвестны, т.к. включение происходило после начала терапии гефитинибом. Линии терапии первая-6 (43%), вторая- 8 (57%).

Характеристика больных третьей группы: n= 6, мужчин 1, женщин 5, медиана возраста 62,2 года (58–66 лет), у всех IV стадия, гистологический вариант аденокарцинома, распределение мутаций в гистологическом материале del19 4 (66,7%), L858R 1 (16,6%), Т790М 0 (0%), неизвестный статус мутации 1 (16,6%), мутации в плазме до начала терапии del19 5 (83,4%), L858R 1 (16,6%), Т790М 0 (0%).

Результаты. (Срез базы данных август 2015 г.) В первой группе у всех пациентов было подтверждено наличие активирующей мутации EGFR в гистологическом материале и назначена терапия гефитинибом в первой линии терапии. У 13 (87%) пациентов в первом образце плазмы, взятом перед началом таргетной терапии, было так же выявлено наличие мутации. Во всех случаях тип мутации, выявленный в блоке, совпадал с плазмой. У 2х пациентов (13%) с del19 в образце опухолевой ткани, в первом образце плазмы делеции обнаружено не было. Уже через 1 месяц после начала терапии, при наличии клинического ответа, у всех пациентов в плазме не определялись активирующие мутации EGFR. Спрогрессировали 3 пациента, у одного это коррелировало с повторным появлением del19, у второго- с появлением Т790М и повторным появлением del19 в плазме. Остальные пациенты продолжают лечение гефитинибом при сохранении ответа на терапию. Ни в одном из образцов плазмы, взятых у данных пациентов на фоне приема гефитиниба и сохраняющегося клинического ответа, не было обнаружено ни активирующих мутаций EGFR, ни Т 790М.

Во второй группе у всех 14 пациентов первый образец плазмы был взят уже на фоне приема гефитиниба (не менее 2х месяцев). В данной пробе ни у одного пациента не было зафиксировано наличие активирующих мутаций EGFR. У 2х пациентов при объективном обследовании сохраняется клинический ответ, они продолжают прием препарата и ни в одном из последующих образцов плазмы не было выявлено ни активирующих, ни Т 790М мутаций. Прогрессия наступила у 12 из 14 пациентов.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

У 5 из них на фоне отсутствия в предыдущих образцах del19, L858R и T 790M мутаций, за 1 месяц до обнаружения объективных признаков прогрессирования в плазме было выявлено наличие мутации T 790M. У 3х пациентов на фоне длительного приема гефитиниба в крови не выявлялись активирующие и T 790M мутации, а при развитии прогрессии были выявлены обе мутации. У 4х пациентов развитие прогрессии не сопровождалось появлением в плазме ни активирующей мутации EGFR, ни T790M мутации.

В третью группу были включены пациенты, начавшие прием гефитиниба только после прогрессирования на первой линии химиотерапии. В плазме этих пациентов на фоне получения различных схем химиотерапии в первой линии активирующие мутации не исчезали и продолжали выявляться. Таким образом, на момент начала терапии гефитинибом у пациентов в плазме определялись активирующие мутации, однако после назначения

Гефитиниба, так же как и у пациентов первой группы, мутации EGFR в плазме не обнаруживались. В данной группе спрессировали 3 пациента. У одного прогрессия коррелировала с появлением в плазме мутации T 790M, у одного с появлением как del19, так и T 790M и у одного при прогрессировании не было выявлено ни del19, ни T 790M мутаций. 3 пациента продолжают прием гефитиниба и на фоне сохраняющегося ответа на терапию в образцах плазмы пациентов не определяются ни активирующие, ни T 790M мутации.

Заключение. Таким образом, прогрессия заболевания наблюдалась у 18 (43%) пациентов. У шести из них она сопровождалась появлением в плазме мутации T 790M, у двух – повторным появлением одной из активирующих мутаций, у пяти – появлением как T 790M, так и вновь активирующей мутации и у пяти пациентов не было выявлено ни одной из этих мутаций.

Исчезновение мутации EGFR в плазме крови, коррелирующее с объективным ответом, может служить маркером эффективности таргетной терапии ИТК при распространенном НМРЛ. Повторное появление в плазме активирующих мутаций EGFR и/или T 790M на фоне терапии может являться одним из индикаторов прогрессии заболевания. В отличие от пациентов, получающих таргетную терапию, введение цитостатиков не оказывает влияние на клетки, несущие мутацию в гене EGFR, т.к. у данных пациентов мутации плазме сохраняются как на фоне терапии, так и при прогрессии.

рапии может угрожать жизни пациентов. Клинические проявления герпес-вирусных инфекций зачастую неспецифичны и отличить их от реакции на проводимую противоопухолевую терапию сложно. Целью исследования было изучение частоты активации герпесвирусных инфекций у онкологических больных на фоне химиотерапии с использованием иммунологических тестов.

Материалы и методы. В исследование включали пациентов, подвергавшихся химиотерапии по поводу гистологически верифицированных метастатических солидных опухолей. Взятие крови для определения активации герпесвирусной инфекции осуществляли до начала и по завершении курса химиотерапии. Маркерами активации инфекции считали появление IgM к вирусу простого герпеса (ВПГ) 1,2 типов, цитомегаловирусу (ЦМВ), капсидному (VCA) антигену вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ), IgG к раннему (ЕА) антигену ВЭБ или нарастание титра IgG к ВПГ, ЦМВ, вирусу герпеса человека 6 типа (ВГЧ 6 типа), капсидному и ядерному (NA) антигенам ВЭБ при исследовании парных сывороток крови, а также выявление клинически значимого количества ДНК вируса в образцах крови.

Определение антител к вирусным белкам проводили с помощью твердофазного ИФА. Вирусную ДНК выделяли из образцов цельной периферической крови в автоматическом режиме на магнитных частицах. Амплификацию и детекцию ДНК проводили методом ПЦР в реальном времени. Исследовано 12 одиночных и 10 парных сыворотки крови, проведено 442 иммунологических и 136 молекулярных исследований.

Результаты. В исследование были включены 22 пациента (12 женщин и 10 мужчин) в возрасте от 35 до 76 лет, средний возраст $53.3 \pm 1,3$ лет. Колоректальный рак был выявлен у 45.5% (10) пациентов, рак желудка – у 9.0% (2), рак молочной железы – у 13.6% (3), рак поджелудочной железы – у 4.5% (1), меланома кожи – у 18.0% (4), и у 1 пациента (4.5%) имелись синхронные рак предстательной железы, рак поджелудочной железы и меланома. 27.3% (6) пациентов ранее никогда не подвергались химиотерапии, у 72.3% (16) в анамнезе было от 1 до 5 линий химиотерапии. Все пациенты подвергались лечению цитостатиками, 68.2% (15) – в сочетании с таргетной терапией.

На фоне химиотерапии у 18.0% (4) пациентов отмечена эозинофилия, у 13.6% (3) – относительный лимфоцитоз, у 4.5% (1) – абсолютный лимфоцитоз на фоне лейкоцитоза, у 4.5% (1) – лейкопения 1 степени, у 4.5% (1) – исходно имелся лейкоцитоз и относительная лимфопения, после лечения показатели лейкоцитов снизились до нормы при относительном лимфоцитозе. Клинически у 18.0% (4) пациентов на фоне лечения отмечена субфебрильная температура, у 4.5% (1) – клинические проявления герпетической инфекции. Различные иммунологические маркеры активации герпес-вирусных инфекций на фоне проводимой химиотерапии были обнаружены у 68,2% (15) пациентов. Активация латентной инфекции, вызванной ВПГ 1,2 типа была отмечена у 31,8% (7), ЦМВ у 31,8% (7), ВЭБ у 50,0% (11), ВГЧ 6 типа у 22,7% (5) пациентов. Одновременная активация нескольких герпес-вирусов была отмечена у 40,9% (9) пациентов.

При исследовании одиночных сывороток IgM к ВПГ 1,2 типов зарегистрированы в 16,7% (2), IgM к ЦМВ в 25% (3), IgM к капсидному антигену ВЭБ и/или IgG к раннему антигену ВЭБ в 25,0% (3) случаев. При исследовании парных сывороток крови нарастание титра IgG к ВПГ 1,2 типов было заре-

Активация герпес-вирусных инфекций у онкологических больных на фоне химиотерапии

Зыкова Т. А., Владимиров Л. Ю., Абрамова Н. А., Богомолова О. А., Попова И. Л., Тихановская Н. М.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnoi@list.ru

Введение. Герпесвирусные инфекции по-прежнему остаются серьезной проблемой для пациентов с иммуносупрессией. Высокая частота активации возбудителей, особенно на фоне использования современных методов химиотерапии, тяжелое течение при отсутствии своевременной диагностики и те-

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

гистрировано у 50,0% (5) пациентов, в том числе у 10,0% (1) с одновременным появлением IgM. Рост IgG к цитомегаловирусу был отмечен у 40,0% (4) пациентов, в том числе у 20,0% (2) с одновременным появлением IgM. Изменение уровня антител к различным антигенам ВЭБ отмечалось у 80% (8) обследованных, в том числе у 20,0% (2) отмечался рост IgG к капсидному и ядерному антигенам с одновременным снижением IgG к раннему антигену ВЭБ. Резкое снижение уровня антител ко всем антигенам ВЭБ отмечено у 10% (1), рост IgG к ядерному антигену ВЭБ на фоне снижения IgG к капсидному антигену установлен у 50% (5) больных, в том числе у 10,0% (1) с одновременным появлением IgG к раннему антигену.

ДНК различных герпес вирусов в крови была обнаружена у 50% (1) пациентов, в том числе ДНК ВЭБ у 31,8% (7), ЦМВ у 22,7% (5), ВГЧ 6 типа у 4,5% (1). Во всех случаях вирусная нагрузка была ниже клинически значимой величины.

Заключение. Результаты предварительных исследований показывают, что проведение химиотерапии существенным образом влияет на процессы активации латентно протекающей герпес вирусной инфекции. Настоящее исследование будет продолжено, однако уже сейчас считаем необходимым использование полного комплекса иммунологических и молекулярных маркеров с оценкой уровня вирусной нагрузки для своевременного выявления активации герпес вирусов и назначения адекватной противовирусной терапии.

**Проспективное когортное исследование
клинических характеристик и подходов к терапии
немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ)
в Российской Федерации: рак легкого — EPICLIN**

Рагулин Ю.А.²⁷, Моисеенко В.М.², Имянитов Е.Н.³, Басова Е.А.⁴, Бричкова О.Ю.⁵, Брюзгин В.В.¹, Бурдаева О.Н.⁶, Гордиев М.Г.⁷, Григорьев П.А.⁸, Гурина Л.И.⁹, Демидова И.А.³¹, Добровольская Н.Ю.¹⁰, Жаркова О.В.¹¹, Иванова Ф.Г.¹², Карселадзе А.И.¹, Кекева Т.В.³⁸, Королева И.А.¹⁴, Кожемяко В.Б.³⁷, Кузьмина Е.С.¹⁵, Лазарев А.Ф.¹⁶, Маяцкая Т.М.¹⁷, Манихас Г.М.¹⁸, Мухаметшина Г.З.⁷, Чичканова А.С.¹⁹, Печеный А.П.²⁰, Пикин О.В.²¹, Пименов И.В.²², Поляков И.С.²³, Пономаренко Д.М.²⁴, Приходько В.В.²⁵, Псарев А.А.²⁶, Ручкин В.Н.²⁸, Сидоров С.В.²⁹, Стаценко Г.Б.³⁰, Строяковский Д.Л.³¹, Тузиков С.А.³², Тюлядин С.А.¹, Хайленко В.А.^{1,36}, Хоринко А.В.³³, Чердынцева Н.В.³², Шаманин В.А.¹³, Шевелева Л.П.³⁴, Карасева В.В.^{35,36}

Место работы: 1. РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва; 2. Научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи, г. Санкт-Петербург; 3. НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, г. Санкт-Петербург; 4. Онкологический диспансер, г. Биробиджан; 5. Областной онкологический диспансер, г. Энгельс; 6. Областной клинический онкологический диспансер, г. Архангельск; 7. Республиканский клинический онкологический диспансер, г. Казань; 8. Окружная клиническая больница, г. Ханты-Мансийск; 9. Приморский краевой онкологический диспансер, г. Владивосток; 10. Российский научный центр рентгенорадиологии Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи, г. Москва; 11. Областной клинический онкологический диспансер, г. Кемерово; 12. Республиканский онкологический диспансер, г. Якутск; 13. Биолинк, Институт молекулярной биологии и биофизики, г. Но-

восибирск; 14. Областной клинический онкологический диспансер, г. Самара; 15. Забайкальский клинический онкологический диспансер, г. Чита; 16. Алтайский филиал РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Барнаул; 17. Краевой клинический центр онкологии, г. Хабаровск; 18. Городской клинический онкологический диспансер, г. Санкт-Петербург; 19. Областной онкологический диспансер, г. Н. Новгород; 20. Онкологический диспансер, г. Орел; 21. МНИОИ им. П.А. Герцена, г. Москва; 22. Онкологический диспансер, Тула; 23. Краевая клиническая больница № 1-ЦГХ им. проф. С.В. Очаповского, г. Краснодар; 24. Областной онкологический диспансер, г. Иркутск; 25. Областной онкологический диспансер, г. Южно-Сахалинск; 26. Онкологический диспансер, г. Белгород; 27. МРНЦ МЗ РФ, г. Обнинск; 28. Республиканский онкологический диспансер, г. Уфа; 29. Городская клиническая больница № 1, г. Новосибирск; 30. Клинический онкологический диспансер, г. Омск; 31. Московская городская онкологическая больница № 62, г. Москва; 32. Томский НИИ онкологии, г. Томск; 33. Краевой онкологический диспансер, г. Пермь; 34. Областной клинический онкологический диспансер № 1, г. Волгоград; 35. АстраЗенека Россия, г. Москва; 36. Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, г. Москва; 37. Тихоокеанский институт биоорганической химии, г. Владивосток; 38. Медико-генетический научный центр РАМН, г. Москва

e-mail: tatiana.shcherbakova@astrazeneca.com

Рак легкого занимает 1-е место по показателю заболеваемости среди других злокачественных опухолей у мужчин в России и 1-е место в структуре смертности от злокачественных новообразований как в России, так и в мире. В 2013 г. раком легкого заболели 56 051 человек (10,5% всех злокачественных опухолей), умерли 41 123 человек (17,4% среди других злокачественных опухолей) (Каприн А.Д., Старинский В.В., 2015). Данное исследование является первым проектом, который изучает влияние подходов к терапии пациентов в рутинной практике на исход лечения во всех линиях терапии НМРЛ в Российской Федерации. Кроме того, в исследовании EPICLIN изучалось наличие взаимосвязи между определенными клиническими характеристиками (возраст, пол, статус курения, гистологический тип опухоли и степень дифференцировки) и наличием мутации в гене эпидермального фактора роста (EGFR). **Материалы и методы.** Исследование EPICLIN – это неинтервенционное проспективное когортное исследование. В нем приняли участие 33 исследовательских центра из Российской Федерации. Набор пациентов продолжался с 1 февраля 2010 по 31 марта 2011. В исследование включались пациенты с подтвержденным диагнозом НМРЛ и наблюдались в течение 12 месяцев или до момента смерти. По каждому пациенту собиралась информация о заболевании, подходах к ведению больного, диагностике и лечению, исходах заболевания и нежелательных явлениях.

Тестирование на наличие мутации EGFR проводилось на гистологическом материале, оно включало основные мутации EGFR del746–750 и EGFR L858R

Результаты. Были проанализированы данные от 838 пациентов. Большинство (78,4%) пациентов было мужского пола, европейской популяции (98%). Средний возраст 58,7 лет и 26,5% пациентов – некурящие. Среди всех гистологических типов преобладал плоскоклеточный рак (54,3%), чуть реже встречались аденокарциномы (31%). У большинства

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

пациентов был распространенный НМРЛ (23,7% – IIIA стадия, 14,1% – IIIB, 25,4% – IV).

Мутация EGFR была обнаружена у 10,1% пациентов. Ее наличие было тесно связано с определенными клинико-патологическими характеристиками: мутация наиболее часто встречалась у пациентов женского пола (32,6% по сравнению с 4% у мужчин), некурящих пациентов (27,5%, тогда как бывшие курильщики и те, кто продолжает курить 7,4% и 2,3% соответственно), пациентов с гистологическим типом аденокарцинома (распространенность EGFR мутации – 19,2% для аденокарцинома и 20,4% для бронхоальвеолярной карциномы).

Кроме того, чем старше был пациент, тем больше было шансов обнаружить мутацию. Первая и вторая линии химиотерапии были выполнены у 370 и 96 пациентов соответственно, медианы выживаемости без прогрессирования составили 35 и 19,4 недели. Для 813 пациентов нежелательные явления были зафиксированы уже на первом визите (194 явления).

Заключение. Данное исследование позволяет лучше понять прогностические и предиктивные факторы при НМРЛ в российской популяции, что позволит выбирать оптимальную терапию в рутинной клинической практике. Эпидемиологические данные по мутации гена EGFR подтверждают результаты других исследований, проведенных в европейской популяции. Регистрационный номер исследования: NCT01069835.

Результаты сочетанной лучевой терапии рака пищевода с применением интратрахеальной брахитерапии

А.А. Ложков, А.В. Важенкин, Т.М. Шарабура, К.И. Кулаев, М.М. Пименова, О.Н. Давыдова, К.Н. Сыролева.

Место работы: ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер»

e-mail: Al615@mail.ru

Актуальность. Злокачественные опухоли пищевода принято считать одними из наиболее прогностически неблагоприятных заболеваний. К моменту выявления 40–60% пациентов не подлежат хирургическому лечению. Самостоятельное использование дистанционной лучевой терапии имеет невысокую эффективность (местный ответ не более, чем у 40% пациентов, двухлетняя общая выживаемость – менее 29%).

Задача исследования заключалась в изучении результатов сочетанной лучевой терапии с брахитерапией (БТ) рака пищевода на аппарате MultiSource с источником Co-60 в режиме HDR (high dose rate – высокая мощность дозы) в сравнении с дистанционной лучевой терапией.

Материалы и методы. В период с 2008 года по апрель 2014 года 33 человека с неоперабельным раком грудного отдела пищевода распространенностью T 2–3N0–1M0 получили курс лучевой терапии по радикальной программе. В первую группу вошли 16 человек получивших дистанционную лучевую терапию до СОД=50–60 Гр. Во вторую группу вошли 17 человек получивших сочетанную лучевую терапию с применением брахитерапии. Средний возраст пациентов в обеих группах составил – 64 года. На первом этапе всем пациентам второй группы была проведена дистанционная лучевая терапия до СОД=40–50 Гр. На втором этапе проводилась интратрахеальная терапия.

Дозиметрическое планирование осуществлялось в режиме 2-D с расчетом дозы на расстоянии 10мм от центральной оси эндостата по ширине и на 20мм от границ опухоли по длине. Уста-

новка гибкого пластикового эндостата производилась под местным обезболиванием с визуальным контролем в процессе ФГС. Дополнительный контроль положения эндостата по отношению к опухоли осуществлялся при рентгенографии в двух проекциях. Схема интратрахеальной БТ включала подведение 10–15Гр за 2–3 фракций по 5,0Гр 2 раза в неделю или 14Гр за 2 фракции с РОД=7 Гр с интервалом в неделю.

7 человек получили суммарную очаговую дозу (СОД) от брахитерапии 14 Гр подведенную за 2 фракции, 5 человек – 15 Гр за 3 фракции, 4 человека – 10 Гр за 2 фракции и 1 человек 15 Гр за 2 фракции.

Результаты и обсуждение. В процессе проведения интратрахеальной БТ осложнений не было, при контрольном осмотре через 1 месяц 63% в первой группе и 82% во второй группе отметили уменьшение выраженности дисфагии. При рентгеноскопии положительный эффект зафиксирован в 56% и 82% случаев соответственно, причем у 3 пациентов из 2 группы достигнут полный эффект. Пищеводный свищ развился у 4 пациентов в первой группе и 2 пациентов во второй группе, клиника кровотечения из опухоли у 2 пациентов в первой группе и 1 пациента во второй. Однолетняя общая выживаемость составила 12% и 50% соответственно.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о хорошей переносимости и высокой непосредственной эффективности сочетанной лучевой терапии у больных раком пищевода.

Эффективность химиотерапии в сочетании с лучевой терапией в лечении больных раком пищевода

Долженко К. И.

Место работы: Самарский государственный медицинский университет, г. Самара

e-mail: satybaldiyev@mail.ru

Актуальность темы. Мы считаем, что надежды на улучшение результатов лечения за счет ранней диагностики остаются перспективами далекого будущего, вероятно, разработка методов лечения рецидивов рака пищевода должна стать, на сегодняшний день, одним из перспективных направлений в клинической онкологии.

Научные направления многих клиник посвящены вопросам возможного улучшения непосредственных и отдаленных результатов лечения больных раком грудного отдела пищевода посредством изыскания оптимальных вариантов сочетания противоопухолевых препаратов в комбинации с лучевой терапией и использования новых методик облучения.

Цель работы: оптимизация лечения больных раком пищевода

Материалы и методы исследования. Мы провели анализ результатов лучевой и химиолучевой терапии больных с ограниченным раком пищевода по радикальному курсу. «Ретроспективная стратификация» позволила создать достаточно репрезентативные группы для объективной оценки различных вариантов консервативного лечения рака пищевода. Оценку эффективности лечения проводили комплексно, согласно унифицированных рекомендаций ВОЗ.

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ результатов дистанционной лучевой терапии рака пищевода в самостоятельном варианте, а также в сочетании с различными вариантами лекарственного лечения позволил нам выявить более высокую эффективность лучевой терапии в комбинации с химиотерапией. Непосредственный полный клинический эффект после химиолучевой терапии достигнут у 36,7

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

+ 4,0% больных против 25,4 + 5,3% после лучевой терапии в самостоятельном варианте. Трехлетняя выживаемость после химиолучевого лечения составила 22,7 + 3,5%, после лучевого – 7,7 ± 3,3% ($p < 0,05$).

Из вариантов полихимиотерапии предпочтительнее оказалось применение сочетания 5-ФУ с капецитабином и цисплатином. Непосредственный полный клинический эффект отмечен у 42,9 + 7,6% пациентов, трехлетняя выживаемость составила 7,1%. При использовании доксорубина с оксалиплатином непосредственный полный клинический эффект достигнут у 35,6 ± 6,2% и 32,6 ± 6,9% больных; трехлетняя выживаемость составила 22,2 + 5,6% и 17,4 + 5,6% соответственно.

Заключение. Рациональное использование возможностей противоопухолевых соединений для усиления лучевого эффекта, позволяет добиться улучшения непосредственных и отдаленных результатов лечения рака пищевода.

Интеграция молекулярных методов в микробиологические исследования

Зыкова Т. А.¹, Богомолова О. А.¹, Панова Н. И.¹, Хомутенко И. А.¹, Савочкина Ю. А.²

Место работы: 1. ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону; 2. ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. Эффективность микробиологической диагностики и эпидемиологического мониторинга в любом стационаре в значительной мере зависит от использования современных технологий.

Цель. Оценка эффективности использования молекулярных методов в рутинной практике микробиологических исследований.

Методы. Выявление генов EBSL (группы CTX–M), карбапенемаз групп KPC и OXA-48, металло-β-лактамаз групп VIM, IMP, NDM в изолятах клинически значимых грамотрицательных бактерий, OXA-карбапенемаз *A. baumannii*, определение MRSA, грибов рода *Candida*, основных возбудителей инфекционных осложнений проводили методом ПЦР в режиме реального времени с гибридационно-флуоресцентной детекцией.

Результаты. Молекулярные методы были использованы для выявления наиболее значимых механизмов приобретенной антибиотикорезистентности, скрининга уровня колонизации пациентов MRSA, грибами рода *Candida*, установления уровня носительства MRSA среди медицинского персонала, определения наиболее значимых возбудителей инфекционных осложнений у онкологических больных.

Ванкомицинрезистентные энтерококки были обнаружены в 9%, MRSA – в 7,7% образцов клинического материала. Частота обнаружения генов EBSL класса CMX–M у изолятов семейства Enterobacteriaceae составила 47,8%. Чаше, чем у других возбудителей они были обнаружены у изолятов *E. coli* (60,0%). Гены класса TEM были обнаружены у 43,5% изолятов семейства Enterobacteriaceae.

Гены карбапенемаз OXA-48 были обнаружены у двух изолятов *Kl. pneumoniae* (5,9%). Один выделен из венозного катетера, второй из отделяемого послеоперационной раны. У двух изолятов *P. aeruginosa* был обнаружен ген группы VIM (4,5%). Один выделен из образца мочи, второй из мокроты. Гены, кодирующие выработку карбапенемаз группы KPC, метал-

ло-β-лактамаз групп IMP и NDM, у грамотрицательных бактерий обнаружены не были.

Acinetobacter baumannii был выделен из 58 образцов от 29 пациентов. Основная доля культур была изолирована из раневого отделяемого (58,6%) и отделяемого нижних дыхательных путей (32,8%). Единичные культуры были выделены из образцов плевральной жидкости, крови, венозного катетера. Была установлена преимущественная циркуляция штаммов, несущих гены, ответственные за продукцию OXA-40 карбапенемаз.

Наличие генов OXA-40 было установлено также у культур *Acinetobacter*, изолированных из смывов внешней среды стационара, выполненных в рамках производственного контроля. Можно предположить, что штаммы *Acinetobacter* spp., циркулирующие во внешней среде, могут служить резервуаром генов OXA-карбапенемаз.

При поступлении в отделение у 56% пациентов наблюдали колонизацию метициллинрезистентными стафилококками, в том числе колонизацию MRSA – у 12%, коагулазонегативными стафилококками, несущими ген *mecA*, – у 54,7%. Среди медицинского персонала уровень носительства MRSA составил от 8,6% до 11,6%.

Общий уровень колонизации слизистой оболочки зева *Candida* spp. у детей при госпитализации составил 23,4%, из них: *C. albicans* – 80,0%, *C. krusei* – 13,3%, одновременно *C. albicans* и *C. krusei* – 6,7%. На фоне онкологической патологии инфекционные заболевания и осложнения протекают наиболее остро. Многие пациенты уже имеют хронические инфекции.

Нами была обследована группа больных раком мочевого пузыря, поступивших для хирургического лечения. Один и тот же образец мочи исследовали с помощью классического культурального метода и методик, разработанных ЦНИИО. В этиологической структуре ИМП у онкоурологических больных при поступлении в стационар преобладали традиционные уропатогены *E. coli* (28,2%), *Enterococcus* spp. (20,5%), *Kl. pneumoniae* (17,9%) и *Staphylococcus* spp. (12,8%). Моноинфекция была обнаружена в 43,5% положительных образцов. При сопоставлении результатов, полученных разными методами, из анализа традиционно были исключены образцы с количеством копий менее 10³ на мл. При этом был установлен высокий процент совпадений результатов, полученных разными методами (85%). Дискордантные результаты можно объяснить как большей чувствительностью метода, так и возможностью определения ДНК погибших микроорганизмов, т.к. многие пациенты на момент обследования получали антибиотики. *Ps. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Streptococcus* spp. и грибы рода *Candida* были обнаружены только при использовании метода ПЦР.

В этиологической структуре возбудителей инфекционных осложнений в абдоминальной онкологии по результатам ПЦР преобладала *E. coli* (40,9%), *Staphylococcus* spp. (36,4%) и *Enterococcus* spp. (31,8%). ДНК *Ps. aeruginosa* была обнаружена в 18,2% образцов, *A. baumannii* в 13,6%, *Streptococcus* spp. в 9,1%, *Kl. pneumoniae* в 4,5% и *C. glabrata* в 4,5%.

Заключение. Использование молекулярных методов помогает осуществлять эффективный надзор за распространением микроорганизмов с эпидемиологически значимыми механизмами антибиотикорезистентности, имеющими тенденцию к широкому распространению в условиях стационаров.

Скрининг MRSA и MRCNS при поступлении в стационар позволяет быстро организовать рациональные разграни-

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

чительные мероприятия, а также, в случае необходимости проведения антибактериальной терапии, выбирать препараты с MRSA – активностью. Молекулярные методы позволяют быстро получить результат и могут быть рекомендованы в случаях необходимости принятия срочного решения о проведении антибиотикотерапии.

Оптимизация профилактики и лечения химиотерапевтических осложнений у больных немелкоклеточным раком легкого

Попова М.Е.

Место работы: ГБУЗ Самарский областной клинический онкологический диспансер

e-mail: popovamy@mail.ru

Цель работы. Изучить и оценить влияние гипербарооксигенотерапии на развитие химиотерапевтических осложнений и дозовую интенсивность у больных немелкоклеточным раком легкого.

Материалы и методы. Материалом для работы послужил анализ результатов обследования и лечения 113 больных, находившихся на лечении в ГБУЗ Самарском областном клиническом онкологическом диспансере с 2007 по 2013 годы с диагнозом немелкоклеточный рак легкого, подтвержденный гистологическим методом, III–IV стадии. Больные были распределены на 2 группы.

В первую группу вошли 50 пациентов, получавших химиотерапию по схеме EP одновременно с сеансами гипербарической оксигенации в режиме 1,3 ата в течение 40 мин (период изопреции) 1 раз в день ежедневно с 1 по 5 день каждого цикла химиотерапии (патент № 2481091 «Способ лечения онкологических больных раком легких»). Вторую (контрольную) группу составили 63 пациента, получавшие химиотерапию по схеме EP без ГБО.

В исследовании была изучена гематологическая (анемия, лейкопения, нейтропения, тромбоцитопения), а также негематологическая (гепато-, нефро-, нейро- и ото-) токсичность, их частота и степень тяжести. Для оценки степени токсичности использовалась шкала токсичности NCIC. В исследовании проводилась оценка дозовой интенсивности и эффективности лечения. С целью коррекции осложнений допускалось откладывание очередного цикла ХТ (до 21 дня), редукция дозы цисплатина на 25–50%. Эффективность лечения оценивалась по шкале RECIST 1.1.

Результаты. В исследовании анализ токсичности был проведен на основании 300 циклов химиотерапии в основной группе и 378 – в группе контроля. Гематологическая токсичность оценивалась по уровню гемоглобина, лейкоцитов, нейтрофилов, тромбоцитов.

Анемия первой степени регистрировалась чаще всего: у 29,3±2,9% больных в основной и 30,6±2,67% контрольной группы. Вторая степень анемии выявлена реже в основной группе (12,6±2,12%), чем в контрольной (20,5±2,34%), различия достоверны ($\chi^2 = 6,02$, $p=0,014$). Отмечены единичные наблюдения анемии 3 и 4 степени. Общая частота анемии в исследуемой группе по всем циклам химиотерапии составила 42,3±3,15%, а в группе контроля – 52,2±2,90%, различия статистически значимы ($\chi^2 = 5,299$, $p=0,021$), что свидетельствует о профилактическом эффекте ГБО при проведении цисплатин-содержащей ХТ больным НМРЛ.

В основной группе развивалась только тромбоцитопения 1 степени, в то время, как в группе контроля отмечены случаи токсичности 2, 3 и 4 степеней. Общая частота тромбоцитопений в основной группе зарегистрирована достоверно реже (12,2±2,09% и 19,2±2,29%, $\chi^2=4,896$, $p=0,027$). ГБО-терапия позволила поддерживать средний уровень лейкоцитов к концу 4–6 циклов ХТ на более высоком уровне, чем в контроле, а также уменьшить частоту случаев лейкопении в основной группе ($\chi^2 = 4,84$, $p=0,028$) за период со второго по пятый цикл ХТ.

За весь курс лечения в основной группе, в отличие от группы контроля, не было выявлено нейтропении 3 и 4 степени. Достоверных данных о том, что ГБО при проведении цисплатин-содержащей ХТ позволило сократить частоту нейтропении по сравнению с контролем не получено. Вероятно, это может быть обусловлено редким развитием нейтропении и применением в обеих группах колониестимулирующего фактора. Однако в контрольной группе значительно чаще применялся КСФ-Г, чем в группе больных, проходивших ХТ одновременно с сеансами ГБО-терапии (1,3±0,73% против 4,3±1,17%, $\chi^2 = 4,44$, $p = 0,035$).

В исследовании получены достоверные данные о том, что ГБО-терапия позволила уменьшить частоту развития тошноты с 57,9±2,86% в контрольной группе до 47,6±3,18% в основной ($\chi^2 = 5,791$, $p = 0,016$). Анализ негематологической токсичности (гепато-, нефро-, нейро- и ототоксичности), а также таких биохимических показателей, как общий белок, альбумины, ЛДГ не выявил достоверно значимых различий между группами.

Показатели средней продолжительности циклов ХТ и общее число отложенных циклов в основной группе были достоверно меньше ($p=0,024$ и $p=0,023$ соответственно). Редукция доз Цисплатина в основной группе проводилась на 84 циклах (34,1±3,02%), и на 131 цикле (44,1±2,88%) в группе контроля ($p=0,018$). Дозовая интенсивность в основной группе составила 20,40±0,40 мг/м²/нед., а в контрольной 19,15±0,38 мг/м²/нед. ($p=0,025$).

Эффективность противоопухолевого лечения больных оценивалась после 3-го и 6-го циклов ХТ. Полный эффект не был отмечен ни у одного больного. Частичный эффект достигнут у 20,0±5,66% и 16,1±4,67% больных по группам, а стабилизация – у 50,0±7,07% и 40,3±6,23% пациентов, соответственно. Прогрессия установлена у 30,0±6,48% и 43,5±6,30% больных. Различия не достоверны ($p>0,05$). Одногодичная общая выживаемость была сопоставима и составила 39,37±7,0% у больных, проходивших ХТ одновременно с сеансами гипербарооксигенотерапии, и 37,96±6,29% у пациентов без ГБО. Медиана общей выживаемости составила по 10 месяцев (статистика логрангового критерия 1,07, $p=0,28$).

Заключение. Гипербарооксигенотерапия позволила сократить общую частоту степени тяжести анемии. Получены достоверные данные о уменьшении гематологической токсичности по частоте развития тромбоцитопении, а также негематологической токсичности по показателю тошноты. Гипербарооксигенотерапия существенно не уменьшила частоту лейкопении и нейтропении за весь курс лечения, но позволила поддержать на более высоком уровне средние показатели лейкоцитов на последних трех циклах, сократить частоту более тяжелых степеней осложнений и частоту применения колониестимулирующего фактора.

Применение гипербарической оксигенации позволило статистически достоверно улучшить показатель дозовой интенсив-

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

ности химиотерапии, не ухудшая показатели общей и безрецидивной выживаемости.

Бизнес-планирование создания ПЭТ-центра в структуре специализированного учреждения

Карицкий А. П.

Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н. Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Россия
e-mail: 9515321@mail.ru

Бизнес-планирование — построение этапов действий, согласное которым планируется достичь окончательного результата, при этом учитываются экономические и временные составляющие. Он позволяет выявить и устранить диспропорции между вариантами создания проекта и экономическими возможностями учреждения.

Целью настоящего исследования стало определение выгоды от инвестирования в проект создания ПЭТ-центра в структуре медицинского учреждения.

Материал и методы. Любой бизнес-план обязательно управляет инвестиционными проектами, нацеленными на долгосрочное получение прибыли. В настоящем бизнес-планировании будут использованы Федеральные формы собственности. Долгосрочными инвестициями станут вложения в строительство и оборудование (725 млн. руб). Помимо реальных долгосрочных инвестиций, в проекте будут участвовать текущие вложения, а именно, фонд заработной платы (3,6 млн. руб в год), инвестиции на расходный материал и на обслуживание оборудования (180 млн. руб).

Инвестиционный проект помимо капиталовложений включает и доходы от реализации данного проекта. На первом году эксплуатации ПЭТ-центра планируется обслужить около 3400 человек (онкологические больные и пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями). При этом у многих пациентов за год возникает потребность в повторных ПЭТ-исследованиях для оценки эффективности назначаемой терапии, а также для динамического наблюдения за излеченными больными с целью раннего выявления рецидива заболевания.

Таким образом, число исследований за год может возрасти до 10.000 человек. Текущие расходы на одного обследуемого составляют 18.400 руб. Данная цифра представляет собой плановую производственную себестоимость услуги. Цена на услугу должна складываться из себестоимости, спроса и психологических принципов. Цена на услугу в Москве \$400–500, в Санкт-Петербурге — в среднем 31.000 руб. На начальном этапе работы ПЭТ-центра в НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова цена в прейскуранте должна быть в районе 25.000 руб. Кроме того, необходимо установить ценовые скидки для определенных социальных слоев населения (дети, пенсионеры, участники ВОВ и др.).

Результаты. Для анализа эффективности данного проекта и проверки устойчивости полученных оценок были использованы расчеты дисконтированных множителей, потока и суммы вложений и доходов при различных ставках дисконтирования. Полученные цифры выявили, что проект должен приносить доход, т.к. при нулевой ставке дисконтирования он окупается. Создав таблицы расчетов различных ставок дисконтирования (15%, 16%, 18%, 22%, 25%), получаем, что наш проект окупается на 4-м году эксплуатации ПЭТ-центра при ставках 15%, 16% и 18%, на 5-м году — при ставках 22% и 25%. Была опре-

делена внутренняя норма доходности, которая представляла собой ставку, при которой проект выйдет на окупаемость к 5-му году эксплуатации ПЭТ-центра. Она составила 31,97%. Смысл ее в том, что при кредитной ставке ниже, чем критическая величина в 31,97%, будет возможно рассчитываться с кредитами с причитающимися процентами.

Заключение. Оценка экономической эффективности проекта создания ПЭТ-центра в структуре онкологического учреждения выявила его инвестиционную привлекательность, а также высокое положительное влияние результатов его реализации на социальную сферу, что позволяет считать этот проект экономически и социально эффективным и рекомендовать его к реализации.

Интраоперационная лучевая терапия в программе комбинированного и комплексного лечения пациентов с раком прямой кишки

Казанцева М. В., Уваров И. Б., Мурашко Р. А., Василенко И. Н., Каушанский В. Б., Дудка А. С.

Место работы: ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, г. Краснодар, Россия
e-mail: uvarovivan@yandex.ru

Цель. Оценка непосредственных и отдаленных результатов лечения пациентов с первичным местнораспространенным и рецидивным раком прямой кишки (РПК) с включением в программу интраоперационной лучевой терапии (ИОЛТ).

Материалы и методы. В анализируемую группу вошли 68 пациентов: мужчин 33, женщин 35, получивших лечение в Клиническом онкологическом диспансере № 1 г. Краснодара, включающее радикальную операцию и ИОЛТ в период с декабря 2012 по декабрь 2014 г. Средний возраст составлял 64,3±10,8 лет (мин. 33; макс. 82; медиана — 67 лет). Индекс массы тела от 19,5 до 44,3 (медиана 28,1). Все пациенты имели аденокарциному прямой кишки: стадия IIA — 44 пациента; IIB — 6; IIC — 1; IIIA — 5; IIIB — 10; IIIC — 2 пациента. Локализация опухоли — верхнеампулярный отдел — 12 (17,6%), среднеампулярный — 34 (50,0%), нижнеампулярный — 22 (32,4%). Для ИОЛТ использовали фотонную радиохирургическую систему Intrabeam®PRS (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany). ИОЛТ проводилась непосредственно после удаления опухоли. Все операции выполнялись открытым доступом. Материал обработан с применением пакета для статистической обработки данных Statistica 8.0, оценка кумулятивной выживаемости (общей и безрецидивной) проводилась методом Каплана-Майера.

Результаты. Хирургическое вмешательство в исследуемой группе выполнено в следующем объеме: передняя резекция высокая — 10; низкая — 34; ультранизкая — 4; брюшно-промежностная экстирпация — 16; операция Гартмана (обструктивная резекция) — 4. Тотальная мезоректумэктомия (ТМЭ) выполнена 58 больным, парциальная — 10. Операция завершена первичным анастомозом у 48 пациентов, у 20 формированием концевой колостомы. Превентивная петлевая трансверзостомы наложена 43 пациентам, илеостомы — 4, первичный анастомоз без превентивной стомы выполнен у 1 пациента.

Средний размер опухоли составил 3,85±1,38 см (2,0–8,0 см). По результатам патогистологического исследования операционного материала аденокарцинома G1–2; G2–54; G3–11;

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

не установленная – 1. Циркулярная граница резекции R0–58 пациентов; R1–8; R2–2.

В программе комплексного лечения 27 (40%) пациентов получили неадьювантную дистанционную лучевую терапию (ДЛТ), у 20 – в сочетании с химиотерапией (ХТ) (химиолучевое лечение). В среднем суммарная доза при ДЛТ составила 49,1±5,21 Гр. (25–50,4 Гр.). Перерыв между ДЛТ и хирургическим лечением составлял в среднем 6 недель.

Адьювантная ХТ проведена 22 пациентам. Для ИОЛТ использовались сферические аппликаторы, в большинстве случаев (65 из 68) диаметром 5,0 см. Доза на поверхности аппликатора составила в среднем 14,8 Гр (мин. 8,39; макс. 17; мед. 15 Гр), на глубине 1 см – 5,07 Гр. Время сеанса ИОЛТ составило в среднем 32,6 мин (от 15 до 36; мед. 34 мин). Течение послеоперационного периода не имело специфических особенностей и осложнений, связанных с облучением.

Средняя длительность госпитализации составила 21,2 дня (от 11 до 33; мед. 22 дня), послеоперационного периода в стационаре – 17,7 дней (от 9 до 25; мед. 18 дней), что не превышало соответствующий показатель для аналогичных операций без ИОЛТ.

У 2 пациентов отмечены инфекционные осложнения со стороны послеоперационной раны брюшной стенки, у 1 – со стороны промежностной раны, частота инфекционных раневых осложнений – 4,4% (3 из 68 больных). У 1 пациента отмечали послеоперационную атонию мочевого пузыря, потребовавшую длительной катетеризации.

Случаев несостоятельности колоректального анастомоза не было. Послеоперационной летальности (30 суток после операции) не отмечалось. Общая выживаемость (2-годовая, кумулятивный показатель Каплан – Майера) составила 87,9% (стандартная ошибка [S.E.] = 4,71). Показатель 2-годовой безрецидивной выживаемости в целом по группе составил 81,1% (S.E.=6,48). Рецидивы в области малого таза зарегистрированы у 3 пациентов (4,4%; 3 из 68), у двоих рецидив развился в течение первого года наблюдения, еще у одного – на 18 месяце наблюдения.

Только у одного пациента (1,5%, 1 из 68) рецидив отмечен непосредственно в области поля интраоперационного облучения. Отдаленное метастазирование отмечено у 8 пациентов (11,8%; 8 из 68) (легкие – 2; печень – 4; печень+легкие – 2). Отдаленных осложнений в виде фиброза мочеочника, гидронефроза, нейропатии нижних конечностей в исследованной группе не наблюдалось.

Заключение. ИОЛТ фотонной радиохирургической системой является безопасной технологией, не приводящей к критическому увеличению длительности операции и не имеющей специфических осложнений. Этот метод может быть интегрирован в алгоритм мультимодального лечения рака прямой кишки в условиях специализированного онкологического учреждения. Отдаленные результаты комбинированного и комплексного лечения рака прямой кишки с включением в программу ИОЛТ требуют своего дальнейшего изучения.

Молекулярно-генетические подтипы плоскоклеточного рака пищевода

Кит О. И., Тодоров С. С., Колесников Е. Н., Пржедецкий Ю. В.
Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России
e-mail: rnioi@list.ru

Рак пищевода – одна из наиболее актуальных проблем в современной онкологии. Прежде всего, это обусловлено тем, что при своевременно установленном диагнозе выполняются различные хирургические вмешательства, в том числе резекции пищевода с пластикой желудочным стеблем или толстой кишкой. Применение высокотехнологичных методов лечения, таких как лапароскопическая резекция пищевода с пластикой, стентирование требует полного представления об особенностях прогрессирования, стадии развития опухоли, наличия регионарных метастазов. Кроме того, фундаментальные вопросы, касающиеся особенностей пато-морфогенеза плоскоклеточного рака пищевода, до сих пор остаются малоизученными.

Целью нашего исследования было морфологическое, иммуногистохимическое изучение биопсийного и операционного материала при плоскоклеточном раке пищевода.

Материалы и методы. Биопсийный и операционный материал от 20 пациентов с установленным плоскоклеточным раком пищевода, в том числе у 12 мужчин и 8 женщин. Средний возраст больных составил 49 лет. Для понимания морфобиологических особенностей структуры плоскоклеточного рака пищевода нами было выполнено иммуногистохимическое исследование, включающее определение Ki-67, p53, p63, CK17, CK5/6, CD44, EGFR, E-кадгерина, рецепторов к эстрогену, прогестерону, коллагена IV типа. Использовались первичные антитела фирмы Ventana «ready to use» в иммуногистостейнере BenchMark Ventana производства США.

Результаты. По степени дифференцировки плоскоклеточный рак был представлен следующими морфологическими вариантами: высокодифференцированным с ороговением (G1, 5 случаев), умереннодифференцированным (G2, 7 случаев), низкодифференцированным (G3, 8 случаев). Глубина инвазии зависела от степени дифференцировки рака пищевода. При G1 плоскоклеточном раке пищевода инвазия была не глубже подслизистой и внутренней мышечной оболочки, в то же время при G2-G3 плоскоклеточном раке достигала наружных мышечных слоев и серозной оболочки. Степень выраженности воспалительной клеточной инфильтрации варьировала и была резко выраженной при G1 карциноме, минимальной при G3 раке.

Сравнительный анализ иммуногистохимических маркеров в ткани опухоли позволил выделить определенные закономерности. Так, было отмечено полное отсутствие рецепторов к гормонам (эстрогену, прогестерону) в ткани опухоли независимо от степени дифференцировки и глубины ее инвазии. Белок межклеточной адгезии E-кадгерин давал слабую мембранную экспрессию в различных морфологических вариантах плоскоклеточного рака пищевода, т.е. не имел, на наш взгляд, существенной прогностической ценности.

В то же время, экспрессия белков EGFR, CD44, p53, Ki-67, p63, CK5/6, CK17 имела определенные закономерности в ткани опухоли.

На основании проведенного сравнительного иммуногистохимического исследования разных типов плоскоклеточного рака пищевода мы предложили выделить четыре биологических подтипа.

Первый биологический подтип плоскоклеточного рака характеризовался резкой мембранной экспрессией белка EGFR (3+), резкой мембранной экспрессией белка межклеточной адгезии CD44 (диффузная экспрессия, более 75% площади опухоли), негативной ядерной реакцией мутантного белка p53, умеренной ядерной экспрессией белка Ki-67 (30–35%

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

ядер клеток опухоли). Следует отметить, что при этой форме плоскоклеточной карциномы имелась выраженная цитоплазматическая экспрессия цитокератина СК5/6 всей толщи опухоли, экспрессия белков СК17, р63 была негативной. Такой молекулярно-генетический вариант мы обозначили как дифференцированный, EGFR позитивный. При сопоставлении данного варианта и степени дифференцировки в 80% наблюдений он соответствовал G1 плоскоклеточному раку с ороговением, в 20% – G1 плоскоклеточному раку без ороговения. Второй биологический подтип характеризовался резкой мембранной экспрессией белка EGFR (3+), наличием мембранной реакции белка CD44 в периферических отделах опухоли, высоким уровнем ядерной экспрессии мутантного белка р53 (80–85%), индекса пролиферативной активности Ki-67 (65–85% ядер клеток). Экспрессия цитокератина СК5/6 имелась в отдельных кластерах опухоли, мозаичной была экспрессия цитокератина СК17, ядерная экспрессия белка р63. Такой подтип опухоли мы обозначили как небазальный, EGFR позитивный.

Третий биологический подтип характеризовался отсутствием мембранной экспрессии белка EGFR (0,+1), негативной реакцией клеток опухоли белка CD44 как в центральных, так и в периферических ее отделах, высоким уровнем пролиферативной активности Ki-67 (70–85%) и уровня апоптоза р53 (80–90%). Экспрессия цитокератинов СК5/6, СК17 была негативной во всех участках опухоли, в то же время ядерная экспрессия белка р63 была резко выраженной в 80–90% ядер клеток. Молекулярно-генетический подтип опухоли мы обозначили как базальный, EGFR негативный.

Четвертый биологический подтип характеризовался отсутствием мембранной экспрессии белка EGFR, белок межклеточной адгезии CD44 в 40% наблюдений был резко позитивный, в 60% – негативный. Уровень экспрессии белка апоптоза р53 была очень высокой (80–90% ядер клеток), индекс пролиферативной активности Ki-67 определялся в пределах 60–75% ядер клеток опухоли. Экспрессия цитокератина СК5/6 была негативной во всех участках опухоли, в то же время ядерная экспрессия белка р63, СК17 была резко выраженной в 90–95% ядер клеток. Такой молекулярно-генетический подтип плоскоклеточного рака мы определили как недифференцированный, EGFR негативный.

Заключение. Полученные результаты морфологического, иммуногистохимического исследований позволяют считать плоскоклеточный рак пищевода гетерогенной структурой, имеющей свои молекулярно-генетические подтипы – дифференцированный, EGFR позитивный; небазальный, EGFR позитивный; базальный, EGFR негативный; недифференцированный, EGFR негативный.

Вероятно, рецепторная активность к EGFR исчезает с утратой дифференцированных клонов клеток опухоли, что необходимо учитывать при разработке таргетной терапии. Отсутствие рецепторов гормонов к эстрогену, прогестерону в ткани опухоли независимо от пола пациента указывает на тот факт, что данная категория новообразований не является гормонально-зависимой.

Полученные сведения об особенностях морфобиологического строения плоскоклеточного рака пищевода и его молекулярно-генетических подтипах позволяют разработать персонализированный подход в хирургическом лечении и таргетной терапии.

Индукцированная гипертермия при канцероматозе брюшины

Китаев А.В.², Петров В.П.¹, Зубрицкий В.Ф.⁴, Шишло В.К.³

Место работы: 1. Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневого, г. Красногорск; 2. ГКА им. Маймонида; 3. Российская медицинская академия последипломного обучения РАМН; 4. ФГБОУ ВПО МГУПП, г. Москва

e-mail: ellen2107@mail.ru

Основной причиной неэффективности хирургического лечения злокачественных опухолей грудной, брюшной полости и таза является диссеминация и имплантация раковых клеток по висцеральной и париетальной плевре, брюшине и тканях полости таза в раннем послеоперационном периоде.

Цель исследования. Оценить структурные изменения при локальном гипертермическом воздействии ($t_0 > 420^\circ\text{C}$) в опухолевых и мезотелиальных клетках брюшины с использованием гистохимического и электронно-микроскопического методов.

Материалы и методы. В исследование включены 35 человек, находившиеся на лечении в Центральном военном клиническом госпитале им. А.А. Вишневого МО, которым проводили циторедуктивные операции (ЦО) с внутриполостной гипертермической химиотерапией (ВГХТ).

Анализ гистологической структуры опухолей показал, что доля аденокарцином составила более 90%, причем низкодифференцированные, умеренно- и высокодифференцированные аденокарциномы встречались соответственно в 17,1%, 28,8% и 9,5%. Доля муцинозной карциномы и недифференцированного рака составила 33,8% и 5,4% соответственно. Для лечения больных с запущенными формами колоректального рака использовали комплексную методику, включающую в себя циторедуктивные операции и ВГХТ.

Результаты. На основании наших исследований мы установили, что глубина проникновения опухолевых клеток в здоровые ткани зависит от распространенности опухолевого процесса по «этажам» брюшной полости. Сонографические данные показали, что наибольшая глубина пенетрации канцероматозных узлов наблюдается в гипогастральном отделе (≥ 10 мм) и меньшая (≤ 5 мм) – в эпигастральной области. Поэтому, по-нашему мнению, перитонэктомия при наличии канцероматозных очагов в нижнем «этаже» брюшной полости надо проводить обязательно.

При исследовании биопсийного материала отмечено, что при использовании метода ВГХТ площадь паренхимы опухолевых клеток уменьшается, а площадь стромы и некроза увеличивается. Следовательно, после проведения ВГХТ уменьшалась наиболее активная часть канцероматозного узла, и она замещалась соединительной и некротической тканью. Кроме того, ВГХТ практически в 2 раза снижает митотическую активность опухолевой ткани.

Заключение. Таким образом, внутрибрюшная гипертермическая химиотерапия приводит к значительным деструктивным изменениям в опухолевой ткани: уменьшается площадь паренхимы и увеличивается площадь стромы и некроза; снижается митотическая активность; появляются признаки апоптотической дегенерации в ядрах и митохондриях раковых клеток.

Митотическая активность клеток опухоли полностью отсутствует на глубине до 3 мм. В более глубоких слоях клеток в 2 раза снижена пролиферативная активность. Индуцированная гипертермия не оказывает деструктивного влияния на клеточные структуры здоровых тканей.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Клиническая эффективность внутриполостной иммунотерапии у больных с метастатическими плевритами, асцитами и перикардитами

Титов К. С., Киселевский М. В., Шубина И. Ж., Михайлова И. Н.
Место работы: Московский клинический научно-практический центр
e-mail: ks-titov@mail.ru

Цель. Провести сравнительную оценку клинической эффективности и переносимости различных методов внутриполостной иммунотерапии у больных с опухолевыми серозитами, резистентных к системной лекарственной терапии.

Материалы и методы. В данное исследование были включены 203 больных с различными диссеминированными злокачественными опухолями с морфологически подтвержденными опухолевыми серозитами (плевриты-93, асциты-72 и перикардиты-38). В исследование вошли 128 (63%) женщин и 75 (37%) мужчин. Медиана возраста составила 54,3 лет. Из них рак молочной железы был у 64 пациенток (31,5%), рак яичников – 62 (30,5%), немелкоклеточный рак легкого – 34 (16,8%), рак желудка – 23 (11,4%), рак почки – 10 (4,9%), рак толстой кишки – 5 (2,5%), мезотелиома плевры 3 (1,5%) и рак поджелудочной железы – 2 (0,9%).

До начала внутриполостной биотерапии статус ECOG-1–2 был у 172 (85%) больных и ECOG-3 у 31 (15%), также до начала внутриполостной иммунотерапии всем больным проводились различные виды противоопухолевого лечения, включающего от 1 до 3 линий системной лекарственной терапии. Для генерации лимфокин-активированных киллеров (ЛАК) использовали мононуклеарные лейкоциты, полученные из серозного экссудата больного (аутологичные) или при сепарации периферической крови здоровых доноров (аллогенные), которые далее генерировали в CO₂-инкубаторе в присутствии интерлейкина-2 (Ронколейкин, ООО «Биотех», Россия), в течение 3 суток.

Для проведения внутриполостной биотерапии серозная полость катетеризировалась Плевроканом («B.Braun», Германия) по стандартным методикам. Экссудат максимально удалялся до начала лечения и через каждые 2 дня в процессе иммунотерапии. В серозную полость 1 раз в день ежедневно вводили Ронколейкин (ИЛ-2) по 1 млн. МЕ ± ЛАК по 100–150 млн. клеток № 10 при плевритах, № 15 при асцитах и № 5 при перикардитах. До начала, в середине и в конце иммунотерапии всем больным проводилось цитологическое исследование экссудата.

В конце иммунотерапии Плеврокан удалялся. Объективный ответ (полный или частичный эффект) оценивался клинически, а также по УЗИ, рентгенографии или КТ через 1 и далее через каждые 3 месяца после окончания внутриполостной биотерапии. По окончании лечения отсутствие опухолевых клеток в остаточном экссудате, в результате их лизиса активированными лимфоцитами, коррелировало с наступлением клинического эффекта.

Результаты. Внутриполостная биотерапия у больных с опухолевыми серозитами позволяет достичь объективного ответа для опухолевых плевритов: при использовании ИЛ-2 и аутологичных ЛАК- 92,9%, ИЛ-2 и аллогенных ЛАК- 93,4% и ИЛ-2–80% (продолжительность объективного ответа: 8,2; 8,5 и 7,9 месяцев соответственно); для опухолевых асцитов: при ИЛ-2 и аллогенных ЛАК-73,2% и ИЛ-2–61,3% с продолжительностью объективного ответа: 5,1 и 4,8 месяцев (в 69,5%

и 64,7% случаев в 2 группах больных раком яичников после внутрибрюшинной иммунотерапии в сыворотке крови отмечалось достоверное снижение уровня онкомаркера СА-125 по сравнению с исходно повышенным уровнем, $p < 0,05$); для опухолевых перикардитов: при ИЛ-2 и аллогенных ЛАК – 95,7% и ИЛ-2–86,7% (продолжительность объективного ответа составила 3,4 и 3,2 месяцев).

Основным побочным эффектом внутриполостной биотерапии в 83% случаев был гриппоподобный синдром. Гематологической и других видов токсичности у пациентов отмечено не было.

Заключение. Таким образом, внутриполостную биотерапию у больных с опухолевыми серозитами, возникающих при прогрессировании заболевания после 1–3 линий системной цитостатической терапии, следует начинать с введения ИЛ-2 в монорежиме, как не менее высокоэффективного и доступного для практического применения метода, а при его неэффективности необходимо дополнять данное лечение введением в серозную полость аллогенных ЛАК-клеток.

Прогнозирование результатов лечения больных раком толстой кишки после мультивисцеральных резекций

Ладур А. И., Золотухин С. Э., Псарас Г. Г., Бондаренко Н. В., Гурьянов В. Г., Заика А. Н.

Место работы: Республиканский онкологический центр им. профессора Г.В. Бондаря, г. Донецк
e-mail: dimaco1986@gmail.com

Цель. Создание прогностических моделей риска послеоперационных осложнений и летальности, выживаемости больных раком толстой кишки (РТК), которым выполнены комбинированные операции (КО), симультантные операции (СО) и комбинированные симультантные операции (КСО).

Материалы и методы. За 20-летний период в Республиканском онкологическом центре им. проф.Бондаря Г.В. было прооперировано 1014 больных РТК, которым были выполнены КО, СО и КСО. Из 1014 больных РТК у 769 (75,8+1,3%) пациентов были выполнены КО, у 221 (21,8+1,3%) больных – СО, в 24 (2,4+0,5%) – КСО.

При выполнении КО, СО и КСО у 1014 больных интраоперационные и послеоперационные осложнения отмечены у 148 (14,6+1,1%) и 182 (17,9+1,2%) пациентов соответственно. Летальность составила – 5,3+0,7% (54 больных).

Пятилетняя выживаемость больных после комбинированной первично-восстановительной операции (КПВО) составила 54,8+2,1%, после комбинированной двухэтапной операции (КДЭО) – 44,8+6,7%. Пятилетняя выживаемость больных после симультантной первично-восстановительной операции (СПВО) составила 70,8+3,4%.

Анализ результатов исследования проводился с использованием методов биостатистики и методов математического моделирования. Для оценки качества прогнозирования модели использовались стандартные критерии: чувствительность и специфичность модели, при этом рассчитывались 95% доверительные интервалы (ДИ) параметров. Для верификации модели использовался метод анализа кривых операционных характеристик (ROC – Receiver Operating Characteristic curve analysis), при этом рассчитывалась площадь под ROC-кривой (AUC – Area under the ROC curve) и ее 95% ДИ. Модель счита-

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

ется адекватной при статистически значимом отличии величины AUC от 0,5.

Для выявления значимых факторов риска в работе использовался генетический алгоритм отбора наиболее значимых переменных (ГА), что связано с большим количеством ($n > 50$) анализируемых входных признаков в исходных моделях. Для количественной оценки степени влияния факторных признаков в работе использовался метод построения и анализа логистических моделей регрессии. В таких моделях степень влияния факторов риска оценивается показателем отношения шансов (ОШ), рассчитывался также 95% ОШ. Построение и анализ нейросетевых моделей проводился в пакете «Statistica Neural Networks 4.0 C» (StatSoft Inc., 1999–2009). Статистический анализ, построение логистических моделей проводились в пакете «MedCalc 11.6» (MedCalc Software, 1993–2011).

Результаты. В результате проведенного анализа выявлено 11 наиболее значимых факторных признаков, определяющих риск развития послеоперационных осложнений. На основании 11-и выделенных признаков построена модель прогнозирования риска развития послеоперационных осложнений, которая с чувствительностью 68,2% (95% ДИ 60,6%–75,4%) и специфичностью 67,7% (95% ДИ 64,1%–71,2%) позволяет прогнозировать этот риск. В рамках анализа многофакторной модели прогнозирования установлено, что при стандартизации по другим факторам риск развития послеоперационных осложнений статистически значимо ($p < 0,0001$) повышается при увеличении длительности операции, ОШ=1,01 (95% ДИ 1,01–1,02) на каждую дополнительную минуту проведения операции.

Установлено, что проведение КО ($p = 0,005$) либо КСО ($p = 0,02$) так же приводит к повышению риска развития послеоперационных осложнений, ОШ=2,1 (95% ДИ 1,2–3,5) или ОШ=3,9 (95% ДИ 1,3–11,6), соответственно в сравнении с СО. Выявлено 7 наиболее значимых факторных признаков, определяющих риск послеоперационной летальности. На основании 7-и выделенных признаков построена модель прогнозирования риска послеоперационной летальности, которая с чувствительностью 56,8% (95% ДИ 41,7%–71,3%) и специфичностью 66,0% (95% ДИ 62,6%–69,3%) позволяет спрогнозировать этот риск.

В рамках анализа многофакторной модели прогнозирования установлено, что при стандартизации по другим факторам риск послеоперационной летальности статистически значимо ($p < 0,0001$) повышается, ОШ=3,1 (95% ДИ 1,7–5,6) при проведении паллиативной операции. На основании 7-и выделенных признаков построена модель прогнозирования риска смерти больного в течение 1 года и менее после проведения операции, которая с чувствительностью 67,0% (95% ДИ 57,7%–75,7%) и специфичностью 69,3% (95% ДИ 65,5%–72,9%) позволяет прогнозировать этот риск.

В рамках анализа многофакторной модели прогнозирования установлено, что при стандартизации по другим факторам риск смерти больного в течение 1 года и менее после выполнения операции выше при левосторонней гемиколонэктомии (ГКЭл), резекции поперечной ободочной кишки (РП), субтотальной колонэктомии (СКЭ) ($p = 0,004$), ОШ=2,8 (95% ДИ 1,4–5,7), чем при выполнении чрезбрюшной резекции прямой кишки (ЧБР), резекции прямой кишки по Дюамелю (РтД), брюшно-наданальной резекции прямой кишки (БНР). Выше также риск смерти больного в течение 1 года и менее

при проведении ДЭО ($p < 0,001$), ОШ=7,2 (95% ДИ 2,9–17,8), чем при ЧБР, РтД, БНР.

Для практического использования модели в среде табличного процессора Excel реализована экспертная система прогнозирования риска послеоперационных осложнений и летальности, а также риска смерти в течение 1 года и менее после операции у больных РТК, которым были выполнены КО, СО и КСО.

Методы химиотерапии распространенного нерезектабельного рака желудка

Попович А. Ю., Богданов Б. А., Комендант В. В., Дзюба Е. С., Попович Ю. А.

Место работы: Донецкий национальный медицинский университет им.М.Горького, г. Донецк

e-mail: dimaco1986@gmail.com

Цель работы. Изучение результатов лечения больных нерезектабельным РЖ при применении внутривенной, эндолимфатической и внутриаартериальной химиотерапии.

Материалы и методы. Сравнена эффективность различных методов ПХТ у 125 больных распространенным РЖ. Группа внутривенной ПХТ (ВВХТ) – 30 пациентов, получавших стандартную ВВХТ по схеме PF (цисплатин – 100 мг/м² в/в, 5-ФУ – 1000 мг/м²/сут., в/в, 120 ч – непрерывная инфузия); группа эндолимфатической ПХТ (ЭЛХТ) – 45 больных, которым проведена ЭЛХТ на основе схемы PF (цисплатин – 100 мг/м² в/в, 5-ФУ – 1000 мг/м²/сут эндолимфатически, 5 дн.); группа внутриаартериальной ПХТ (ВАХТ) – 50 пациентов, которым после пробной лапаротомии выполнена ВАХТ до 6 курсов: 5-фторурацил – 10–15 мг/кг/сут., ежедневно, длительная инфузия – 10–12 ч по 3–5 мл/ч (в течение 5 суток).

Группы больных были сравнимы по возрасту, полу и основным параметрам опухолевого процесса. ПХТ проводилась раз в месяц, с перерывом в 3 недели. Сравнение токсичности ПХТ проводилось по наиболее частым осложнениям: гематологические, гастроинтестинальные, слабость и алоpecia.

Результаты. Гематологические осложнения достоверно почти в 2 раза реже встречались при ЭЛХТ (33,6±4,1% случаев), чем при ВВХТ (53,1±3,9%) и ВАХТ (58,0±4,0%). Лейкопения I–II степени чаще отмечена при ВАХТ (50,7±4,1%), при ЭЛХТ и ВВХТ она встретилась достоверно реже – в 15,6±3,3 и 13,1±2,7% случаях. Лейкопения III–IV степени практически не отмечена при ВАХТ (6,0±1,9% случаев), но достоверно чаще встречалась при ЭЛХТ (19,7±3,6%) и значительно чаще при ВВПХТ (50,6±4,0%).

Лейкопения III–IV степени отмечена в половине всех случаев ВВХТ (это характерно для схемы PF), но при ЭЛПХТ встречалось достоверно более чем в 2 раза реже. Тромбоцитопения I–II степени чаще отмечена при ВАПХТ (38,0±4,0%), а при ЭЛПХТ и ВВПХТ встречалась редко – в 9,0±2,6 и 10,6±2,4% случаев. Анемия I–III степени, реже встречалась при ЭЛХТ (28,7±4,1% случаев) и достоверно чаще при ВВХТ (36,9±3,8%) и ВАХТ (44,0±4,1%). Частота развития легкой (I–II) и тяжелой (III) анемии во всех трех группах отличалась недостоверно.

Гастроинтестинальная токсичность характерна для цисплатина и 5-ФУ, поэтому ее частота была высока при всех видах ПХТ: ЭЛХТ – 40,2±4,4%, ВВХТ – 55,6±3,9%, ВАХТ – 48,0±4,1% случаев. Тошнота и рвота достоверно реже наблюдались при ВАПХТ, скорее всего, потому, что в этой группе цисплатин не применялся. Анорексия характерна для распространенного РЖ и как токсическое осложнение – для ПХТ с цисплатином

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

и 5-ФУ, поэтому анорексия отмечена во всех группах больных: ЭЛХТ – $15,6 \pm 3,3\%$, ВВХТ – $16,9 \pm 3,0\%$, ВАХТ – $22,0 \pm 3,4\%$ случаев (без достоверной разницы). Слабость реже всего сопровождала ЭЛХТ – $15,6 \pm 3,3\%$, чаще встречалась при ВАХТ – $24,0 \pm 3,5\%$ и достоверно чаще при ВВХТ – в $40,6 \pm 3,9\%$ случаев ($p < 0,01$). Другие осложнения, в основном алопеция, встречались реже при ВАХТ ($23,3 \pm 3,5\%$ случаев) и достоверно чаще при ЭЛХТ ($33,6 \pm 4,3\%$) и ВВХТ ($52,5 \pm 3,9\%$).

В целом, осложнения реже наблюдались при ЭЛХТ ($41,8 \pm 4,5\%$ случаев), чем при ВВХТ ($65,6 \pm 3,8\%$) и ВАХТ ($59,3 \pm 4,0\%$), а осложнения III–IV степени были при ЭЛХТ ($24,6 \pm 3,9\%$) достоверно реже, чем при ВВХТ ($53,1 \pm 3,9\%$) и ВАХТ ($37,3 \pm 3,9\%$).

Эффективность лечения по критериям RECIST определена у 32 ($71,1 \pm 6,8\%$) из 45 пациентов группы ЭЛХТ с измеримыми метастазами в печень, забрюшинные лимфоузлы или легкие. Пятеро пациентов умерли в течение первых 1–2 мес. наблюдения на фоне клинического ухудшения общего состояния, КТ для выявления эффекта лечения им не выполнялась. Полного эффекта не отмечено ни у одного из 32 больных, частичный эффект отмечен у 9 ($28,1 \pm 7,9\%$) – все они получили 5 и более курсов ЭЛХТ. Стабилизация опухолевого процесса зафиксирована у 11 ($34,4 \pm 8,4\%$) пациентов после 3–4 курсов ПХТ, у остальных 12 ($37,5 \pm 8,6\%$) пациентов наблюдалось прогрессирование заболевания, вследствие чего им проведено всего 1–2 курса ПХТ.

Эффективность лечения определена у всех 30 больных получивших стандартную ВВХТ. Полного эффекта не было, частичный эффект зафиксирован у 11 ($36,7 \pm 8,8\%$) больных после 4–6 курсов ВВХТ, стабилизация опухолевого процесса отмечена у 9 ($30,0 \pm 8,4\%$) – они получили 3–5 курсов ПХТ. У 10 ($33,3 \pm 8,6\%$) пациентов на фоне ПХТ отмечено прогрессирование заболевания, поэтому они получили по 1–2 курса ПХТ.

Изучение результатов лечения 50 больных группы ВАХТ показало, что катетеризация правой желудочно-сальниковой артерии во время пробной или симптоматической операции не увеличивает частоту послеоперационных осложнений и послеоперационную летальность. Непосредственный эффект лечения оценен у 42 ($84,0\%$) из 50 больных.

Полного эффекта не отмечено, частичный эффект – у 16 ($38,1 \pm 7,5\%$) пациентов, они получили 3–6 курсов ВАХТ. Стабилизация опухолевого процесса – у 15 ($35,7 \pm 5,4\%$) пациентов, получивших по 3–4 курса ПХТ, у 11 ($26,2 \pm 6,8\%$) больных отмечено прогрессирование РЖ, в связи с чем, они получили всего по 1–2 курса ПХТ.

Медиана выживаемости больных при различных методиках ПХТ составила: при ЭЛХТ – 8,1; при ВВХТ – 9,2; при ВАХТ – 10,8 мес., а при канцероматозе париетальной брюшины и неудаляемых метастазах в забрюшинные лимфоузлы, соответственно: 11,6, 8,9 и 6,5 ($p < 0,01$). Эти наблюдения согласуются с литературными данными о том, что при эндолимфатическом введении цитостатиков их максимальная концентрация достигается в лимфоколлекторах брюшной полости, забрюшинного пространства и перитонеальной жидкости, что соответствует лимфогенному и имплантационному направлениям распространения РЖ [5, 6].

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод, что ЭЛХТ может применяться при РЖ, эта методика наиболее эффективна при канцероматозе париетальной брюшины и нерезектабельных метастазах в забрюшинные лимфатические узлы, напротив – ВАХТ более эффективна при наличии метастазов в печень и поджелудочную железу, что следует учитывать при выборе методики консервативного лечения РЖ.

Паллиативная лучевая терапия в лечении метастатического поражения печени

Семикоз Н. Г., Тараненко М. Л., Роголев А. В., Жильцов А. В.

Место работы: Донецкий национальный медицинский университет им.М. Горького, г. Донецк

e-mail: dimaco1986@gmail.com

Цель. Повышение качества и увеличение продолжительности жизни пациентов с метастазами в печень.

Материалы и методы. В основу настоящего исследования были положены сведения о 111 больных с метастатическим поражением печени, при злокачественных опухолях различной локализации. В исследуемую группу включены 67 больных, паллиативное лечение которых включало 2–4 курса полихимиотерапии с последующей дистанционной лучевой терапией (через 3 недели) по разработанной нами программе с применением суперфракционирования дозы и использованием радиосенсибилизации.

Лучевую терапию метастазов в печени проводили по следующей методике: в режиме суперфракционирования дозы облучения с радиосенсибилизацией: 2 раза в день с РОД-1 Гр, через 4 часа до СОД-30–40 Гр.

Схема проведения лучевой терапии: утром с переднего поля печень облучалась в дозе- 0,1 Гр, затем – 3-х минутный перерыв и с того же поля – 0,9 Гр. С заднего поля – 1 Гр.

Через 4 часа облучалось заднее поле в дозе- 0,1 Гр, 3-х минутный перерыв и с того же поля – 0,9 Гр. С переднего поля – 1 Гр. Через 2 месяца после окончания курса лучевой терапии проводилась оценка результатов лечения.

Контрольную группу составили 44 больных, которым проводилась системная полихимиотерапия.

Результаты. Средняя продолжительность жизни в исследуемой группе наблюдения составила $1,37 + 0,17$ года. Одногодичная выживаемость составила $34,5 + 4,27\%$, двухлетняя – $14,7 + 7,3\%$ и трехлетняя выживаемость – $10,5 + 8,1\%$.

Средняя продолжительность жизни в контрольной группе наблюдения составила $0,84 + 0,14$ года. Одногодичная выживаемость составила $14,8 + 4,27\%$, двухлетняя – $6,9 + 7,3\%$.

Заключение. Таким образом, лучевая терапия больных с метастазами в печень при опухолях различных локализаций по разработанной методике с применением суперфракционирования дозы излучения и радиосенсибилизацией, позволяет добиться повышения качества жизни и достоверного увеличения продолжительности жизни пациентов с данной патологией.

Антиметаболическая терапия в комплексном лечении рака молочной железы

Седаков И. Е., Бутенко Е. В., Шатова О. П., Зинкович И. И., Хлопушин Е. Ю., Кульков С. К.

Место работы: Республиканский онкологический центр им. проф. Г.В. Бондаря, г. Донецк.

e-mail: dimaco1986@gmail.com

Целью данного исследования является доказательство того, что противоопухолевые эффекты метформина могут быть опосредованы через гиперпродукцию лактата, активацию АДА, подавление аденозинергической иммуносупрессии. В эксперименте in vitro доказана способность метформина повышать чувствительность раковых клеток и особенно стволовых к цитостатикам. Кроме того, высказано предположение, что метформин способен инициировать репрограммирование злокачественно трансформированных клеток.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

В наших предыдущих исследованиях доказана способность лактата дозозависимо активировать аденозиндезаминазу (АДА).

Материал и методы исследования. Использовали операционные биоптаты опухолевых тканей 30 больных раком молочной железы (РМЖ) T2–4N1M0, получавших в плане комплексного лечения циклы неоадъювантной внутриартериальной полихимиотерапии по схеме АСМФ. Из них 15 пациенток дополнительно получали метформин в дозе 1000 мг в день.

Результаты исследования и их обсуждение. Полученные результаты свидетельствуют, что прием метформина сказывается на работе ключевого фермента распада аденозина – АДА. Его активность возрастает до $12,1 \pm 2,49$ нмоль/мин*мг белка, статистически значимо ($p=0,003$) превышая соответствующий показатель у пациентов контрольной группы – $4,77 \pm 0,943$ нмоль/мин*мг белка. Было установлено, что концентрация субстрата аденозиндезаминазной реакции – аденозина в опухолевой ткани у больных с РМЖ, которые принимали метформин, была $0,226 \pm 0,148$ мкмоль/г ткани, а у больных без приема метформина – $0,186 \pm 0,056$ мкмоль/г ткани.

При оценке концентрации одного из продуктов аденозиндезаминазной реакции – инозина мы установили, что на фоне приема метформина уровень инозина составляет $0,121 \pm 0,041$ мкмоль/г ткани, что статистически значимо выше по сравнению с таким же показателем в контрольной группе $0,042 \pm 0,015$ мкмоль/г ткани ($p=0,25$). Дальнейший продукт распада пуринов – гипоксантин показал максимальный рост концентрации на фоне терапии метформином.

Так в группе принимавшей метформин его концентрация составляла $2,45 \pm 0,428$ мкмоль/г ткани (без учета плотности ткани 2450 ± 428 мкмоль/л), тогда как в группе контроля – всего лишь $0,711 \pm 0,269$ мкмоль/г ткани (без учета плотности ткани 711 ± 269 мкмоль/л) ($p=0,0003$). Оба эти значения значительно превышают концентрацию гипоксантина в нормальных тканях – 172 мкмоль/л, что может свидетельствовать об ингибировании метформином ксантиноксидазы – фермента дальнейшего распада гипоксантина. Однако такое предположение требует дополнительных исследований.

Заключение. Прием метформина на фоне циклов неоадъювантной полихимиотерапии увеличивает активность АДА в опухолевых тканях, что может иметь позитивный эффект в ускользании от парадокса Хеллстрёма (аденозинергической иммуносупрессии). Установлено резкое увеличение аденозина в опухолевой ткани.

Уровень инозина в опухолевой ткани был ниже, тогда, как на фоне проводимой терапии он повышался. Интересно, что содержание гипоксантина значительно увеличилось на фоне приема метформина. Можно предположить иные источники гипоксантина или ингибирование ксантиноксидазы метформином.

Использование регорафениба при мутантном KRAS типе метастатического колоректального рака (МКРР)

Алиев Р. Я., Фараджов О. Ф., Рафиева Н. Т.

Место работы: Военный госпиталь Министерства национальной безопасности Азербайджанской Республики

e-mail: nigar@rafiyevs.com

Колоректальный рак (КРР) является широко распространенной в мире патологией, занимает второе место по смертности от злокачественных новообразований среди мужчин и жен-

щин [1]. Причем большое количество случаев заболевания относится к метастатической форме рака.

Интеграция биологических агентов в химиотерапию (х/т) МКРР привела к значительному улучшению результатов лечения этого заболевания. Арсенал таких препаратов за последние годы значительно расширился и включает моноклональные антитела (МКА) против рецепторов эпидермального фактора роста EGFR (панитумумаб и цетуксимаб), МКА к сосудистому эндотелиальному фактору роста VEGF-A (бевацизумаб) [2, 3]. Однако, цетуксимаб и панитумумаб, как вторая линия терапии МКРР, неэффективны при наличии мутации KRAS, которая выявляется в 40% случаев КРР [4].

Вместе с тем, эффективность терапии бевацизумабом не зависит от статуса KRAS. Возможности этого препарата в первой линии терапии изучены в целом ряде исследований при сочетании со схемами, как на основе оксалиплатина, так и на основе иринотекана. Были получены отчетливые данные об увеличении показателя общей выживаемости и времени без прогрессирования болезни (ВБП) [5]. Однако, увеличение дозы бевацизумаба до 7,5 мг/кг во второй линии терапии больных МКРР не всегда дает положительные результаты.

В ходе исследования CORRECT, проведенного в последней, третьей линии терапии, было установлено, что использование нового мультитаргетного тирозинкиназного ингибитора VEGFR2 и Tie2 регорафениба у пациентов с МКРР достоверно улучшает общую выживаемость не зависимо от статуса KRAS.

Цель исследования. Сравнительный анализ использования бевацизумаба в комбинации с монокимиотерапией и регорафениба у больных с МКРР на второй и третьей линиях терапии.

Материалы и методы. В исследовании участвовало 66 больных с МКРР, получившие лечение в 2013–2015 годах в Военном госпитале Министерства национальной безопасности Азербайджанской Республики и в «Hisar Intercontinental Hospital» (Стамбул, Турция). Все больные до включения в протокол получили лечение бевацизумабом (в дозе 5 мг/кг) в комбинации с х/т в режимах FOLFOX, FOLFIRI и XELOX. У всех больных наблюдались метастазы в печень, у 5-х – проведена радиочастотная термоабляция, а у 4-х – эндоваскулярная химиоэмболизация МТС.

Первая группа (38 больных) получила бевацизумаб в дозе 7,5 мг/кг (1 раз в 3 недели) в комбинации с Кселодой в дозе 2000мг/м² (14 дней). Вторая группа (28 больных) получила регорафениб в дозе 160 мг перорально 1 раз в день, с 1 по 21 день каждого 28-дневного цикла. Все пациенты получили по 6 курсов лечения и наблюдались в течении года.

Результаты. В первой группе объективный эффект не отмечался. Во второй группе у 5-х больных отмечалась частичная ремиссия. Медиана безрецидивной выживаемости для первой группы составила 2,4 месяцев, а для второй 3,1 месяца.

Были изучены побочные эффекты (по шкале токсичности, критерии NCICTC) химиотаргетной терапии с бевацизумабом и регорафенибом. Гематологическая и негематологическая токсичность была не выраженной, эметический синдром наблюдался в обеих группах.

Однако, в связи с применением антиэметических препаратов гастроинтестинальные осложнения были минимальными и наблюдались в виде умеренной тошноты, а рвота зарегистрирована в 17% случаев в первой и 9% во второй группе. Кроме того, в первой группе в 21,8% случаев отмечалась диарея, которая была связана с применением препарата «Кселода». В связи с этим, у 4-х пациентов была отменена «Кселода».

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Во второй группе диарея наблюдалась в 11,5% случаев. «Ладонно-подошвенный синдром» встречался у пациентов обеих групп с одинаковой частотой и оценены первой и второй степенями токсичности. У остальных больных число и тяжесть токсичных проявлений было прогнозировано. Курсы лечения не лимитировали.

Заключение. Таким образом, по первоначальным результатам (исследование продолжается) можно сделать вывод, что применение регорафениба во второй и третьей линии терапии больных мКРП с мутацией KRAS, менее токсично и достоверно улучшает качество жизни больных.

Литература.

1. Храновская Н. Н., Бесова Н. С. (2011). Таргетная терапия колоректального рака: место цетуксимаба (эритукса). *Здоровье Украины* 3(16): 16–17.
2. De Costro-Carpeno J. Belda-Iniesta C. Casado Saenz E. et al. (2008). EGFR and colon cancer: a clinical view. *Clin. Transl. Oncol.* 10(1): 6–13.
3. Jean G. W. Shah S. R. (2008). Epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies for the treatment of metastatic colorectal cancer. *Pharmacotherapy* 28(6).
4. Ciardiello F., Tortora G (2008). EGFR antagonists in cancer treatment. *N. Engl., J. Med.* 358. 1160–1174.
5. Hurwits H., Fehrenbacher L., Novotny W. et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335–42.

Персонализированный подход к назначению неоадьювантной химиотерапии больным с люминальным В раком молочной железы на основании молекулярно-генетических характеристик опухоли

Казанцева П. В.¹, Слонимская Е. М.¹; Литвяков Н. В.^{1,2}, Цыганов М. М.¹

Место работы: 1. Томский НИИ Онкологии; 2. Томский Государственный Университет
e-mail: polydoctor@yandex.ru

Актуальность. Неоадьювантная химиотерапия – один из этапов комбинированного лечения рака молочной железы. Ее применение расширяет возможности для выполнения органосохраняющих операций, а достижение ПМР ассоциировано с наилучшими показателями выживаемости. Однако регрессия опухоли в ответ на предоперационное лечение наблюдается далеко не всегда.

Одной из причин неэффективности химиотерапии злокачественных новообразований является множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток, которую связывают с работой энергетических АВС-транспортеров. Известно, что при делеции генов МЛУ наблюдается выраженный ответ на НАХТ.

Кроме того, в последнее время в литературе появились данные о взаимосвязи химиочувствительности опухоли с хромосомными aberrациями в регионах, не являющихся генами МЛУ. Ранее на основании анализа полногеномного исследования 68 образцов опухолевой ткани нами были получены данные о связи высокой эффективности предоперационной ХТ с делецией 11q22.1–23.3; 18p11.21 регионов и амплификацией 1q23.2–43 региона. Широко известно, что амплификация локуса гена TOP2a сопряжена с высокой эффективностью

антрациклин-содержащих схем. Также чувствительность опухоли к определенным химиотерапевтическим препаратам коррелирует с уровнем экспрессии некоторых молекул, являющихся мишенями действия цитостатиков.

Не смотря на большое количество проводимых фундаментальных исследований, однозначного мнения относительно предсказательной значимости изучаемых критериев, а также выбора схемы при РМЖ нет.

Цель. Разработать и клинически апробировать алгоритм персонализированного назначения НАХТ у больных люминальным В РМЖ на основании молекулярно-генетических характеристик опухоли.

Материалы и методы. В исследование включено 33 пациентки с люминальным В (Her2 – отрицательным) РМЖ IIa–IIIc стадии в возрасте от 29 до 61 года. До начала лечения всем пациенткам выполнялась биопсия новообразования, гистологическое исследование биоптата, выделение ДНК опухоли с последующим ее исследованием с помощью микрочипов CitoScan фирмы Affimetrix. Параллельно с этим из опухолевой ткани выделяли РНК и с помощью количественной ПЦР в реальном времени оценивали уровень экспрессии TOP2a и TYMS. На основании полученных данных решался вопрос о тактике лечения конкретного пациента.

Результаты. Исходя из данных литературы и результатов проведенного ранее исследования нами был разработан алгоритм персонализированного назначения НАХТ. На первом этапе которого решался вопрос о целесообразности проведения НАХТ. Для этого в опухолевой ткани определялись маркеры ее эффективности: делеции генов МЛУ (ABCB1–7q21.1, ABCB3–6p21.32, ABCC1–16p13.1, ABCG2–4q22, MVP–16p11.2), делеции 11q22.1–23.3; 18p11.21 регионов и амплификацией 1q23.2–43 региона. При наличии хотя бы 1 из перечисленных мутаций принималось решение в пользу проведения предоперационной ХТ. В случае отсутствия всех перечисленных хромосомных aberrаций лечение начиналось с хирургического вмешательства.

На 2-м этапе в случае назначения НАХТ производился индивидуальный подбор ее схемы. Амплификация локуса гена TOP2a и/или уровень его экспрессии больше 4 служили показаниями к назначению антрациклинов. При делеции или нормальном состоянии данного гена одновременно с низким уровнем его экспрессии пациентам были рекомендованы таксаны. Высокий уровень экспрессии гена TYMS говорил о целесообразности применения капецитабина. А схемы включающие препараты платины были показаны при широкой представленности клон с делецией локуса гена BRCA1.

Исходя из представленного алгоритма предоперационная ХТ была показана 23 пациенткам, что составляет почти 68%. Из них в 30,4% назначалась схема FAC с той же частотой использовались таксаны в монорежиме, в 21,7% случаев была рекомендована схема САХ и в 17,5% случаев пациенты получали схемы включающие препараты платины.

В настоящее время оценка эффекта НАХТ возможна у 17 пациенток. Из них в 11,8% случаев наблюдалась стабилизация процесса, а в 88,2% имела место частичная и полная регрессия, что почти в 2 раза больше чем в контрольной группе, где данный показатель составил 45%. Стоит отметить, что в группе исследования в 80% случаев величина регрессии опухоли была более 80%.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что разработанный алгоритм позволяет персонализировано

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

подойти к решению вопроса о целесообразности проведения НАХТ и в случае положительного решения, определиться с выбором схемы.

С точки зрения клинициста это помогает избежать необоснованной токсичности и способствует выраженному уменьшению объема опухоли, что расширяет возможности для органосохранного лечения и как следствие улучшает качество жизни пациентов.

Мультимодальный подход в тактике местно-распространенного рака прямой кишки

Гордийчук П.^{1,2}, Кошель К.², Ключов А.^{1,2}, Гордийчук Н.¹, Гринчук С.¹

Место работы: 1. Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л.Шупика; 2. Киевский городской клинический онкологический центр, г. Киев, Украина
e-mail: P_Gordijchuk@ukr.net

Местнораспространенный рак прямой кишки довольно часто (22–49%) диагностируемая форма рака прямой кишки, однако, в существующих дискуссиях нет единого мнения о самом определении понятия местно-распространенного рака, выборе диагностической и лечебной тактики, оценке результатов лечения.

Цель. Улучшить результаты лечения путем индивидуализации выбора диагностической и лечебной тактики.

Материал и методы. За период с 2008 по 2014 гг. в абдоминальном отделении Киевского городского клинического онкологического центра прооперировано 1603 больных на рак прямой кишки, среди которых с местнораспространенным раком оперировано – 291 (18,15%). Всем больным выполнен комплекс стандартного обследования в соответствии к нозологии, больным с подозрением на местнораспространенный рак обязательно выполняли МРТ органом малого таза, по возможности ПЭТ-КТ.

Характеристика 291 больного на местнораспространенный рак была следующей: средний возраст составил $62,67 \pm 5,64$ года; достоверное преимущество женского пола на мужским (59,1% к 40,9%); опухоль преимущественно (60,82%) поражала средние и нижнеампулярные отделы прямой кишки; за данными морфологического исследования в более трети больных верифицирована слизь продуцирующая аденокарцинома.

Осложнения местного процесса диагностированы в 159 (54,64%) больных, среди которых: – в 57 больных паранеоплазматический инфильтрат, в том числе с абсцедированием в 19 больных; – 39 больных гнойно-деструктивный процесс (ректотонический свищ в 23 пациентов и ректовагинальный – 16); – субкомпенсированная кишечная непроходимость диагностирована в 63 больных.

Результаты. На основании проведенных исследований, проведения консервативных и медикаментозных мероприятий больные распределены на три группы. I-я составила 175 (60,14%) больных без гнойно-деструктивных осложнений с компенсированной функцией органов малого таза. Больным на первом этапе комплексного лечения выполнена неoadъювантная химиолучевая терапия: пероральные фторпиримидины (фторафур или капецетабин) + лучевая терапия за классическим фракционированием с разовой дозой от 1,8 до 2,2 Гр к суммарной 44,8–49,7 Гр с последующим, через 6–8 недель проведением хирургического лечения. II-я – 89 (30,58%) больных с гнойно-деструктивными осложнениями,

не разрешенной кишечной непроходимостью с нарушениями функции органов малого таза.

На первом этапе этим больным выполнялось хирургическое лечение. III-я группа составила 27 (9,28%) пациентов в которых выявлен распространенный опухолевый процесс (T4N0–1–2M1 (hep et pulm)), больным проведена предоперационная подготовка, выполнено симптоматическое хирургическое лечение, медиана выживаемости среди пациентов данной группы составила $7,86 \pm 3,12$ месяца. Используя мультимодальный подход, при необходимости, включая в состав операционных бригад онкоуролога, онкогинеколога или сосудистого хирурга дало возможность добиться резектабельности 86,85% среди больных первой группы и 75,28% во второй, с показателем резекций R0 соответственно 85,14% и 65,19%. Преимущественно оперативные вмешательства выполнялись в комбинированном объеме, среди больных первой группы они составили 73,03%, во второй – 86,56%. Наиболее часто производилась резекция мочевого пузыря в 41 (18,72%) больного, надвлагалищная ампутация матки с придатками в 36 (16,44%) и в сочетании вышеперечисленных вмешательств – 28 (12,78%) больных. Оперативные вмешательства с первичным восстановлением непрерывности толстой кишки чаще выполнялись в больных первой группы и составили – 67,43%, тогда как в больных второй группы лишь 49,44%.

Послеоперационные осложнения среди больных первой группы возникли в 16,57%, во второй – 21,35%, а послеоперационная летальность соответственно – 2,86% и 6,74%. Адъювантное лечение было проведено в 223 (84,47%) больных первой и второй групп, из них за схемами: – Mayo пролечено – 39,46% пациентов; – FOLFOX-6 – 31,84%; – CAPOX – 23,76% и в 4,93% была использована методика «сэндвич» (2 курса ПХТ + ХЛТ + 2 курса ПХТ). Локорегионарные рецидивы в больных первой группы возникли в 8 (5,26%) случаях, генерализация процесса в 7 (4,60%) больных, а среди больных второй группы соответственно – 10,44% и 7,46%. Отдаленные результаты лечения изучаются.

Заключение. Таким образом, местнораспространенный рак прямой кишки – это неподвижная опухоль, которая поражает два и больше отделов прямой кишки, прорастает за пределы органа и собственного ректального фасциального пространства с распространением в окружающие органы и ткани, в более половины случаев осложненная гнойно-деструктивным процессом с нарушением функции органов малого таза. Распределение по группам больных данной категории дало возможность индивидуализировать подход в выборе этапности комплексного лечения и получить неплохие результаты.

Непосредственные результаты циторедуктивных операций при колоректальном раке

Козлов С.В., Каганов О.И., Савельев В.Н., Ткачев М.В., Козлов А.М., Швеиц Д.С., Ткачева В.М.

Место работы: Самарский областной клинический онкологический диспансер

e-mail: m9277477577@mail.ru

Цель работы. Изучить результаты и обосновать применение радиочастотной термоабляции (РЧА) в комбинированном лечении больных с метастазами колоректального рака (КРР) в печени.

Материалы и методы. В программу исследования вошли 178 больных с билобарными единичными и множественными

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

метастазами колоректального рака (КРР) в печени, выявленными после радикального хирургического лечения опухоли толстой кишки. В основную группу (n=93) больные, которые получали комбинированное лечение: химиотерапия и радиочастотной абляции (РЧА). Больным контрольной группы (n=85) проводилась только химиотерапия без хирургического воздействия на метастатические очаги. Сравнительный анализ результатов лечения проводился: в основной (n=39) и контрольной (n=33) группах – с единичными метастазами; и в основной (n=54) и контрольных (n=52) группах – с множественными метастазами.

Полученные результаты. У больных в основной группе с единичными метастазами КРР в печени была достигнута трехлетняя безрецидивная выживаемость, которая составила 3,5%, медиана безрецидивной выживаемости достигла 15 месяцев. В контрольной группе с единичными метастазами были получены только двухлетние показатели – 6,9%, медиана выживаемости составила 9 месяцев.

Общая пятилетняя выживаемость в основной группе с единичными метастазами – 4,3%, медиана общей выживаемости достигла 28 месяцев, тогда как в контрольной группе была получена лишь трехлетняя выживаемость – 9,9%, с медианой выживаемости 15 месяцев. В основной группе больных с множественными билобарными метастазами КРР в печени проведение РЧА позволило достичь двухлетней безрецидивной выживаемости – 3,4% с медианой безрецидивной выживаемости 9 месяцев, в то время как в контрольной группе с множественными метастазами аналогичный показатель равнялся нулю, медиана выживаемости достигла 6 месяцев. Применение РЧА в основной группе с множественными метастазами позволило достичь показателя общей четырехлетней выживаемости – 1,8%, медиана выживаемости 18 месяцев, тогда как в контрольной группе была получена лишь трехлетняя выживаемость – 2,1%, медиана выживаемости 11 месяцев.

Выводы. Применение метода РЧА в комбинации с химиотерапией при лечении единичных и множественных билобарных метастазов КРР, позволяет значимо улучшить показатели безрецидивной и общей выживаемости.

Сочетанный фенотип экспрессии генов TYMS и TYMP как потенциальный маркер прогноза при колоректальном раке

Бабенко А. С., Смирнов С. Ю., Михнюк Д. В., Ануфреенок И. В., Смолякова Р. М., Кохнюк В. Т.

Место работы: РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, г. Минск, Беларусь

e-mail: a.babenko@omr.med.by

Основным методом лечения пациентов, страдающих колоректальным раком (КРР), является хирургический. В качестве стандартных схем адъювантной химиотерапии применяются препараты группы 5-фторурацила. Использование монотерапии не всегда приводит к стабилизации опухолевого процесса. В последнее время широкое распространение получили некоторые комплексные схемы воздействия на конкретные молекулярные мишени внутри опухоли (топоизомеразы, тимидилат синтаза и др.). Однако несмотря на применение современных комбинаций цитостатиков, показания к использованию большинства этих препаратов пациентам, страдающим

КРР, основывается на эмпирическом подходе по достижению положительного эффекта. У 20% пациентов, страдающих КРР, опухоли являются химиорезистентными, что требует применения индивидуализированных программ лечения.

Цель настоящей работы заключается в изучении профиля экспрессии генов TYMS и TYMP в образцах опухолевой ткани кишечника, а также оценке их прогностического значения.

Материалом исследования послужили 29 образцов опухолевой ткани, полученных от пациентов, страдающих КРР IIIA-B стадии, проходивших лечение на базе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова. Адъювантная химиотерапия проводилась с включением в схему 5-фторурацила.

Общую фракцию РНК выделяли с помощью набора RecoverAll Total RNAqueous-4PCR Total RNA Isolation Kit (Ambion, США) согласно протоколу производителя. Обратную транскрипцию проводили с помощью набора реагентов High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Invitrogen, США) согласно протоколу производителя. ПЦР в режиме реального времени проводили с помощью набора Maxima Hot Start Taq DNA Polymerase (Fermentas, Литва).

Реакцию проводили в формате TaqMan. В качестве референсного гена использовали SCARNA5. В качестве контроля использовали морфологически неизменную ткань кишечника. Относительный уровень экспрессии генов определяли с помощью метода 2-ΔΔCq. Для получения значений Cq использовали метод максимума второй производной кривых флуоресценции образцов.

Результаты. В результате проведенного исследования повышенный уровень экспрессии гена TYMS выявлен у 10 пациентов (34,5%), а гена TYMP – 4 пациентов (13,8%). Пониженный уровень экспрессии TYMS диагностирован у 9 пациентов (31,0%), а TYMP – 8 (27,6). В течение 2 лет наблюдения прогрессирование процесса наблюдалось у 5 пациентов.

Анализ данных не выявил статистически значимой корреляции между уровнем экспрессии гена TYMP с прогрессированием заболевания и общей выживаемостью. В тоже время установлено, что повышенный уровень экспрессии гена TYMS коррелирует с прогрессированием заболевания (ткенд. = 0,437; p<0,05) и общей выживаемостью (ткенд. = 0,468; p<0,05). Обнаружена связь между пониженным уровнем экспрессии генов TYMS и TYMP (ткенд. = 0,420; p<0,05).

Попарная группировка и последующий анализ признаков показал, что существует статистически значимая связь между прогрессированием заболевания и сочетанием высокого уровня экспрессии гена TYMS и низкого уровня экспрессии гена TYMP (ткенд. = 0,414; p<0,05), высоким TYMS и нормальным TYMP (ткенд. = 0,443; p<0,05), высоким TYMS и нормальным или низким TYMP (ткенд. = 0,596; p<0,001). При этом выявлена связь между повышением частоты неблагоприятных исходов и высоким уровнем экспрессии гена TYMS и нормальным уровнем экспрессии гена TYMP (ткенд. = 0,665; p<0,001), высоким TYMS и нормальным или низким TYMP (ткенд. = 0,602; p<0,001).

Выводы. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о возможности использования уровня экспрессии генов TYMS и TYMP в качестве прогностических маркеров неблагоприятного исхода при проведении адъювантной химиотерапии с включением 5-фторурацила у пациентов, страдающих колоректальным раком.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Варианты селективной трансартериальной эмболизации при опухолевом поражении костей

Долгушин Б. И., Мартынов Д. В., Трофимов И. А., Косырев В. Ю.

Место работы: РОНЦ им. Н. Н. Блохина, г. Москва, РФ

e-mail: generaloncology@rambler.ru

Цель. Оценка эффективности вариантов применения селективной трансартериальной эмболизации при первичном и метастатическом поражении костей

Материалы и методы. В РОНЦ им. Н. Н. Блохина в 2000–2015 годах получали лечение 30 пациентов с первичным и метастатическим поражением костей. Из них: мужчины – 18 (60%), женщины – 12 (40%). Средний возраст $37,32 \pm 14,42$ лет, диапазон 12–68 лет. Первичное поражение костей скелета – у 18 больных, метастатический процесс – у 12 пациентов (в основном метастазы рака почки). Распределение по локализации поражения: позвоночный столб – 17 случаев, другие отделы – 13 случаев. При поражении позвоночника выполнялась эмболизация артерий соответствующих сегментов (при исключении выявленной при ангиографии артерии Адамкевича).

Цель эмболизации. Лечебное воздействие, иногда в составе комбинированных схем – в 15 случаях, предоперационная эмболизация питающих опухоль артерий для уменьшения интраоперационной кровопотери – в 15 случаях. Чаще всего выполнялась одна эмболизация – у 25 пациентов, у 5 больных – выполнялась дважды из-за развитой сети коллатеральных сосудов. Используемый материал: микросферы – в 22 случаях (размеры частиц варьировали от 100 до 500 мкм), спирали – в 9 случаях, гистакрил и/или липиодол в 6 случаях (у некоторых пациентов были использованы комбинации эмболизирующих материалов).

Результаты. В 100% случаев эмболизация была технически успешной. В 6 (33,3%) случаях резидуальный кровоток оставался в пределах 5–30%. Клинический ответ после лечебной эмболизации получен в 93,3% случаев в виде уменьшения боли (по результатам визуальных аналоговых шкал), улучшения функции конечности.

При предоперационной эмболизации в 80% случаев удалось достичь выраженного снижения кровопотери при последующем интраоперационном выделении опухоли, сократить продолжительность хирургического вмешательства. Постэмболизационный синдром присутствовал у большинства пациентов, парестезии наблюдались в 26,7% случаев. Выраженных неврологических осложнений, а также некрозов кожи, мягких тканей отмечено не было.

Вывод. Селективная трансартериальная эмболизация при первичном и метастатическом поражении костей скелета – эффективный вариант воздействия как с лечебной целью, в том числе в составе комбинированного лечения, так и в предоперационном режиме для уменьшения степени риска оперативного вмешательства. Тщательная эмболизация питающих артерий, особенно при наличии множества коллатералей, необходима для достижения адекватного эффекта.

Антирезорбтивные свойства отечественного препарата Резорба (золедроновая кислота) при костных метастазах рака молочной железы

Снеговой А. В., Кононенко И. Б., Манзюк Л. В., Сельчук В. Ю.

Место работы: ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН» МЗ РФ

e-mail: drsneg@gmail.com

Цель. Оценить антирезорбтивные свойства отечественного препарата Резорба (золедроновая кислота) в комбинации со специфическим противоопухолевым лечением (ХТ/ГТ) у больных с впервые выявленными метастазами в кости рака молочной железы. Использовался маркер костного ремоделирования P1NP (аминотерминальный пропептид проколлагена I типа).

Материалы и методы. В исследование включено 33 пациентки с метастатическим РМЖ в возрасте от 28 до 73 лет (медиана – 56 лет) и впервые выявленными метастазами в кости, не получавшие ранее костно-направленную терапию. Все больные имели гистологически подтвержденный рак молочной железы, возраст – старше 18 лет, удовлетворительное общее состояние (по шкале ECOG 0–1 балл), рентгенологически подтвержденные метастазы в кости, нормальный уровень биохимических показателей в сыворотке крови (кальций, креатинин, мочевины и др.). Радикальное оперативное вмешательство ранее было выполнено 28 больным, у 5 пациенток диагностировано первично-метастатическое заболевание.

Все включенные в исследование пациентки имели положительные рецепторы эстрогена и/или прогестерона, у 4-х была выявлена гиперэкспрессия Her-2/neu. Сочетанное поражение костей и других органов (печень, легкие, лимфатические узлы) диагностировалось у 14 больных. В зависимости от количества метастазов пациентки были разделены на две группы: единичные очаги ≤ 3 ($n=24$) и множественные очаги > 3 ($n=9$). Одновременно с костно-направленной терапией Резорбой проводилось специфическое противоопухолевое лечение: химиотерапия (ХТ) или гормонотерапия (ГТ) в первой ($n=30$) или во второй линии ($n=3$). Резорба вводилась по 4 мг внутривенно капельно 15–20 минутная инфузия 1 раз в 4 недели (1-й, 28-й, 56-й дни). Дополнительно пациенты получали препараты кальция и витамина D. Для определения уровня P1NP в сыворотке крови применяли иммунохимический метод с электрохемолуминисцентной детекцией, оцениваемый перед началом лечения и на 13 неделе.

Нами выбраны пограничные значения уровня маркеров костной резорбции – 35 нг/мл и 95 нг/мл – обычно используемые в научных исследованиях для оценки степени риска скелетных осложнений. Согласно исходному уровню маркера P1NP больные были разделены на три подгруппы:

I – нормальный уровень P1NP (<35 нг/мл) – низкий риск (5 больных); II – умеренно повышенный P1NP (>35 – <95 нг/мл) – умеренный риск (20 больных); III – высокий уровень P1NP (>95 нг/мл) – высокий риск (8 больных).

Таким образом, большинство пациенток ($n=20$) имели умеренный риск скелетных осложнений. Высокий риск отмечен у 8 больных, а низкий риск и нормальный уровень P1NP только у 5 пациенток.

Результаты. По результатам проведенного клинического исследования, включавшего 33 больных, с впервые выявленными метастазами в кости рака молочной железы, применение препарата Резорба (золедроновая кислота) в комбинации со специфическим противоопухолевым лечением (ХТ/ГТ) привело к снижению медианы уровня P1NP во всей группе ($n=33$): до начала лечения, она составила 63 нг/мл (41,25–92,75), на 13 неделе показатель снизился до 33 нг/мл (20–88,75), $p = 0.006$ (по Wilcoxon). В целом снижение уровня P1NP отмечено у 21 больной из 33 (63,6%), включая его нормализацию – у 16 (48,4%). У 7 (21,2%) пациенток маркер

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

оставался без динамики и лишь у 5 (15,2%) больных отмечено увеличение уровня Р1NP на фоне лечения.

Также отмечено позитивное влияние терапии на снижение болевого синдрома у 11/13 больных. При введении Резорбы наиболее часто встречался только кратковременный невысокий подъем температуры (37,1–37,3 °С) на 2–3-и сутки у 7 больных (21,2%), который не требовал приема жаропонижающих средств. Также не было выявлено отрицательного влияния Резорбы на уровень показателей общего и биохимического анализов крови: эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, нейтрофилов, креатинина и кальция.

Заключение. Полученные в ходе исследования результаты продемонстрировали хорошую переносимость и высокую эффективность лекарственного лечения (ХТ и/или ГТ) с включением остеомодифицирующего препарата Резорба (золедроновая кислота) у больных с впервые выявленными костными метастазами рака молочной железы.

Антирезорбтивные свойства Резорбы подтверждаются снижением маркера Р1NP в сыворотке крови у 63,6% больных, включая его нормализацию у 48,4%. Уменьшение костной резорбции, в большинстве случаев, сопровождается снижением болевого синдрома и улучшением качества жизни больных.

Комплексное лечение рецидивов злокачественных глиом головного мозга

Давыдова О. Н., Важенин А. В., Шарабура Т. М., Пименова М. М., Сыролева К. Н., Ложков А. А.

Место работы: ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер», г. Челябинск. ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», г. Челябинск.

e-mail: Olga_davydova_641@mail.ru

Цель исследования. Цель настоящего исследования заключалась в изучении результатов комплексной терапии рецидивов злокачественных глиом головного мозга для оптимизации выбора метода лечения.

Материалы и методы. В исследование включено 57 пациентов с рецидивами злокачественных глиом, получавших комплексное лечение на базе Челябинского Областного Клинического Онкологического Диспансера за период с 2000 по 2014 гг. Все пациенты получили лечение по поводу первичной опухоли в соответствии со стандартами. 56% (32 человека) исследуемых составили мужчины, 44% (25 человек) – женщины. Средний возраст составил 45,0±10,7 лет (от 21 до 67 лет). У 22 пациентов был рецидив глиобластомы; у 23 – анапластической астроцитомы; у 7 – анапластической олигодендроглиомы.

Отдельно была выделена подгруппа больных в количестве 5 человек с трансформацией доброкачественной астроцитомы в злокачественную глиому Grade III–IV. Медиана выживаемости до рецидива составила 25,9 месяцев. Срок рецидива соответствовал дате МРТ, на которой был впервые зафиксирован рецидив опухоли. Повторно оперированы 30 больных. Всем проведено повторное облучение. В 39 случаях проведена фотонная лучевая терапия (11 пациентам – конформная и 28 – конвенциональная лучевая терапия).

7 пациентам проводилась сочетанная фотонно-нейтронная терапия. Суммарная доза повторного облучения составила от 14Гр до 56Гр до суммарной кумулятивной дозы, не превышающей 100Гр. Суммарная доза нейтронного облучения соста-

вила 14,4 изоГр. 18 пациентам проведено стереотаксическое облучение с дозой от 15 до 27 Гр за 3–7 сеансов на аппарате Cyber Knife. 31 больной получил циклы химиотерапии темодолом или бевасизумабом.

Результаты. Медиана общей выживаемости составила 36 месяцев. Из 57 включенных в исследование пациентов 44 пациента умерло 13 – живы. Медиана выживаемости после выявления рецидива составила 23 месяца. Наименьшая продолжительность жизни отмечена у пациентов с глиобластомой, тогда как наибольшая – в группе пациентов с олигодендроглиомой.

Анализ выживаемости в зависимости от метода проведенного лечения не показал достоверных различий в группах пациентов, получавших конформную и конвенциональную лучевую терапию (медиана выживаемости составила 26,3 и 25,8 мес. соответственно). В группе пациентов с сочетанной фотонно-нейтронной терапией результат оказался лучше (44 мес. против 20 мес.), но различия оказались статистически недостоверными. Не было выявлено достоверных различий в выживаемости в группе пациентов с повторной операцией и без нее. В то же время пациенты, получавшие химиотерапию по поводу рецидива опухоли жили дольше.

Заключение. Многокомпонентное лечение рецидивов злокачественных глиом (повторная лучевая терапия, сочетанная фотонно-нейтронная терапия, химиотерапия) позволяет улучшить выживаемость больных. Современные технологии (стереотаксическая, конформная лучевая терапия, нейтронная терапия) расширяют возможности повторного облучения рецидивов злокачественных глиом головного мозга.

Клиническая интерпретация сывороточной концентрации опухолевых маркеров Са125, HE 4 у пациенток с объемными образованиями малого таза: можно ли повысить точность индекса ROMA?

Кацюба М. С.^{1,2}, Хасанов Р. Ш.^{1,2,3}, Усманова Г. А.², Муратова Г. З.⁴, Ратнер Е. Ю.¹, Ахметзянова А. Ф.², Панов А. В.²

Место работы: 1. ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Казань; 2. ГАУЗ «Республиканский клинический онкодиспансер» МЗ РТ, г. Казань; 3. Приволжский филиал ФГБНУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина, г. Казань; 4. ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

e-mail: mkatsuba@mail.ru

Цели настоящего исследования определить референсные границы сывороточной концентрации опухолевого маркера HE 4 для смешанной популяции Поволжского региона России и оценить возможности повышения диагностической точности опухолевых маркеров Са125, HE 4 и вычисляемого на их основе индекса ROMA с учетом особенностей референсной популяции и индивидуальных факторов пациентов

Материалы и методы. Мы измерили методом хемилюминесцентного иммунологического анализа на микрочастицах (СМИА) сывороточную концентрацию опухолевых маркеров Са125 и HE 4 у 108 здоровых женщин, а также у 292 пациенток с объемными образованиями придатков матки, запланированных на хирургическое лечение. Участницы исследования были разделены на подгруппы согласно возрасту, менопаузальному статусу, а также на курящих/некурящих.

С целью оценки референсных границ в группе здоровых жен-

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

щин вычислялись 95-й, 97,5-й и 99-й проценти с 90%- доверительным интервалом (90% ДИ) согласно рекомендациям Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины (IFCC). Чувствительность и специфичность каждого опухолевого маркера и индекса ROMA во всей группе и подгруппах определялись относительно общепринятого дискриминационного уровня (ДУ), референсных значений, полученных на здоровых женщин, а также вычисленных нами оптимальных ДУ.

Результаты. У здоровых женщин сывороточные концентрации HE 4 находились в диапазоне от 14,9 до 45,1 пмоль/л. Среднее значение (\pm стандартное отклонение), медиана, 95-й, 97,5-й проценти (90% ДИ) равнялись соответственно 28,4 ($\pm 6,1$); 28,05; 38,5 (37,5–41,2), 42,8 (40,2–44,3). С учетом общепринятого ДУ чувствительность ROMA для диагностики инвазивной яичниковой карциномы была 93,2%, а для всех гистологических типов (включая неэпителиальные) злокачественных и пограничных опухолей – 84,1%.

Примечательно, что чувствительность ROMA для пограничных и злокачественных опухолей всех гистологических типов стадии II–IV оказалась равной 100% (95% ДИ: 94,8–100%). Не во всех подгруппах ROMA показал лучшую диагностическую точность, чем отдельные опухолевые маркеры. Использование полученных оптимальных ДУ привело к существенному улучшению диагностической точности в некоторых подгруппах.

Заключение. Референсные границы сывороточной концентрации опухолевого маркера HE 4 для здоровых женщин Поволжского региона России оказались намного ниже нормативов, рекомендованных производителем. Учет особенностей референсной популяции, а также индивидуальных факторов пациентов, может привести к повышению диагностической точности маркера HE 4 и ROMA.

Комплексная неоадьювантная полихимиотерапия в лечении больных раком шейки матки

Моисеенко Т. И., Назаралиева Н. А., Меньшенина А. П., Бойко К. П., Непомнящая Е. М., Фаткина Н. Б.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Рак шейки матки остается одной из ведущих онкогинекологических проблем и регистрируется наиболее часто у женщин в социально-активном возрасте.

Основным методом лечения рака шейки матки операбельных форм является хирургический. В зависимости от степени распространения процесса и варианта опухолевого роста операция может комбинироваться с лекарственным или лучевым способами лечения в нео- или адьювантном режимах.

Возможности предоперационной химиотерапии для больных раком шейки матки изучались еще с 70-х годов прошлого столетия и оправдали себя хорошими результатами при эндолимфатическом, контактном и системном вариантах применения. Нынешние возможности предоперационной химиотерапии позволяют не только снизить или нивелировать токсичность разных способов химиотерапии, но и многократно усилить ее действие, за счет факторов, способствующих глубокому проникновению цитостатика в ткань опухоли, кумуляции в ней и пролонгированному воздействию.

Цель. Изучить эффективность различных модификаций не-

оадьювантной химиотерапии у больных местнораспространенным раком шейки матки.

Материалы и методы. Проанализирована эффективность лечения 36 больных местнораспространенным раком шейки матки IB2–IIB стадий. Плоскоклеточный рак шейки матки был верифицирован у 33 пациенток, у 2 больных была диагностирована аденокарцинома. Возраст больных составлял от 25 до 45 лет. Пациентки были разделены на 2 группы в зависимости от метода лечения.

I (основную) группу (19 человек) в которой больным на фоне системной неоадьювантной полихимиотерапии ежедневно, в течение 7 дней, локально осуществлялась сонодинамическая химиотерапия с использованием среднечастотного ультразвукового воздействия (аппарат УЗТ-1,03У, частота 0,88 МГц, $I=0,4–1,0$ Вт/см², время экспозиции 15 мин). В качестве цитостатика применяли 5% гель 5-фторурацила 20 мг, который наносили на озвучивающую поверхность волновода, передвигая его по очагу поражения, не отрывая от поверхности, осуществляли УЗ воздействие на опухоль.

II (контрольную) группу (17 человек) составили больные, получившие 2–3 курса неоадьювантной полихимиотерапии с перерывом 21 день.

Схема системной неоадьювантной химиотерапии в обеих группах была идентична: цисплатин в дозе 75 мг/м² (в 1 день введения) и блеомицетин 20 мг/м² (в 1 и в 5 дни химиотерапии) при плоскоклеточных карциномах; и цисплатин 50 мг/м² (в 1 день введения) и гемцитабин 1000 мг/м² (в 1 и в 5 дни химиотерапии) при аденокарциномах.

Результаты. В исследование включены больные преимущественно с экзофитными опухолями, объем которых определялся по результатам сонографического исследования до начала лечения и на его этапах. Дополнительно фиксировали интенсивность кровотока в опухоли по данным доплерографии. Степень распространенности процесса контролировалась по данным СРКТ. Способ сонодинамической химиотерапии не вызывал побочных явлений и не усугублял токсических проявлений сопутствующей системной полихимиотерапии. Скорость регрессии первичной опухоли у больных основной группы уже после первого курса опережала таковую у больных контрольной группы на 15–25%. Всем больным провели два курса неоадьювантной полихимиотерапии, после которых проведено хирургическое лечение в объеме нервосберегающей пангистерэктомии и тазовой лимфаденэктомии. В первой группе метастазы в регионарные лимфоузлы обнаружены у 2 больных из 19 (10,5%); во второй – у 3 из 17 пациенток (17,6%).

Морфологические изменения в первичных опухолях больных основной группы соответствовали патоморфозу II–IV степени. В опухолях контрольной группы преобладали изменения, соответствующие II–III степени морфологической регрессии карциномы. На течение послеоперационного периода, заживление операционной раны, формирование влагалищного рубца вариант неоадьювантного лечения влияния не оказывал. Длительность лимфорреи у больных основной группы на 3–4 дня дольше. Адьювантные этапы лечения у всех больных были осуществлены согласно плану.

Заключение. Таким образом, непосредственный эффект неоадьювантной сонодинамической химиотерапии по данным клиники, сонографическим показателям и степени морфологических изменений в первичной опухоли значительно превышает аналогичные показатели в контрольной группе.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Эффективность комбинации паклитаксела и цисплатина в химиолучевой терапии местнораспространенного рака шейки матки у молодых женщин

Базаева И. Я., Кравец О. А., Горбунова В. А., Хохлова С. В., Романова Е. А.

Место работы: ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения РФ, г. Москва
e-mail: irinabazaeva@rambler.ru

Цель. Улучшение результатов лечения больных местнораспространенным раком шейки матки благодаря применению современных методик химиолучевой терапии и последующим проведением адъювантной химиотерапии.

Материалы и методы. 32 пациентки в возрасте 18–50 лет, ECOG ≤ 2, с диагнозом рак шейки матки (РШМ) T2b–3bN0–1M0–1 (метастазы в парааортальных лимфатических узлах (ПАН)). На первом этапе лечения проводилась дистанционная лучевая терапия (ДЛТ) малого таза и зон регионарного метастазирования на ускорителе электронов КЛИНАК энергией фотонов 6–18 MeV методикой конформного облучения, РОД 2 Гр в точках А и В, режим облучения – ежедневно 5 дней в неделю до СОД 50 Гр, статическим «Бокс» методом с 8 полей облучения с еженедельным введением цисплатина 20 мг/м² и паклитаксела 30 мг/м².

Далее пациенткам проводилась брахитерапия на аппарате Микроселектрон HDR с источником излучения 192Ir, РОД в точке А составила 7.5 Гр, режим облучения – 1 раз в 6 дней, 4 фракции, суммарная доза в точке А – 30 Гр. При поражении парааортальных лимфатических узлов проводилось облучение соответствующей зоны до суммарной дозы 40–50 Гр одновременно с началом лучевой терапии на область малого таза. Суммарные дозы от курса сочетанной лучевой терапии в точке А составили 80 Гр, в точке В – 60 Гр. Через 2 недели после окончания брахитерапии проводилось два курса адъювантной химиотерапии (АХТ) по схеме паклитаксел 175 мг/м² и цисплатин 75 мг/м² каждые 21 день. Окончательная оценка эффекта лечения по RECIST 1.0 (МРТ органов малого таза с внутривенным контрастным усилением) проводилась через 4 недели после окончания лечения. Оценка токсичности: по критериям CTC AE4.0 и критериям RTOG/EORTC.

Результаты. У 3/32 (9.4%) пациенток выявлена IIb стадия, у 21/32 (65.6%) – IIIb стадия, у 8/32 (25%) – IVb стадия с метастазами в ПАН. Полная регрессия опухоли достигнута у 24/32 (75.0%), частичная регрессия – у 7/32 (21.9%), прогрессирование заболевания – у 1/32 (3.1%) пациентки, стабилизации выявлено не было. Контроль роста опухоли получен у 31/32 (96.9%) пациентки. Медиана наблюдения за больными составила 22.3 мес. (от 5.5 до 32.7 мес.). Прогрессирование заболевания выявлено у 12/32 (37.5%) больных, смерть от прогрессирования РШМ – у 5/32 (15.6%) пациенток. Медианы общей выживаемости (ОВ) и выживаемости без прогрессирования (ВБП) не достигнуты.

Показатели выживаемости на группу в целом: 1-летняя ОВ составила 93.8% ± 4.3%, ВБП – 78.1% ± 7.3%. 2-летняя ОВ составила 82.6% ± 7.2%, ВБП – 60.0% ± 10.4%. Поскольку подгруппа с IIIb стадией РШМ оказалась наиболее многочисленной, был проведен подгрупповой анализ показателей выживаемости у данной категории пациенток: одно- и двухгодичная ОВ составила 90.2% ± 6.6%; 1-летняя ВБП – 90.5% ±

6.4%, 2-летняя ВБП – 75.4% ± 9.6%. Гематологическая токсичность лечения оказалась умеренно выраженной и обратимой. Нейтропенией 4 степени осложнилось лечение у 6/32 (18.8%) пациенток, при этом фебрильная нейтропения 4 степени была зарегистрирована у 2/32 (6.2%) пациенток. Анемия 3 степени была выявлена у 3/32 (9.4%) пациенток.

Анемии 4 степени, а также тромбоцитопении 3–4 степени не отмечено. Непосредственная негематологическая токсичность лечения в основном была представлена осложнениями со стороны желудочно-кишечного тракта, а именно диареей 3 степени, осложнившей лечение 5/32 (15.6%) пациенток. Артралгии и оссалгии 3 степени были отмечены на этапе АХТ у 4/32 (12.5%) пациенток. Токсическая сенсорная полинейропатия не превышала 1–2 степени и также была отмечена на этапе АХТ.

При оценке поздних лучевых осложнений по шкале RTOG/EORTC частота ректитов 3 и 4 степени составила 5/32 (15.6%, 6.2% и 9.4%, соответственно) больных: у трех пациенток была выявлена язва прямой кишки, у двух пациенток – эрозивно-геморрагический ректит 3 ст. Частота ректитов 2 степени составила 12/32 (37.5%) больных, 1 степени – 11/32 (34.4%) пациенток, у 4/32 (12.5%) пациенток осложнений со стороны кишечника выявлено не было. У одной (3.1%) пациентки через 2 месяца после окончания лечения был выявлен гидронефроз правой почки, других случаев тяжелых поздних лучевых осложнений со стороны мочеполовой системы выявлено не было.

Заключение. Новый подход к лечению больных местнораспространенным раком шейки матки с использованием новейших методик конкурентной лучевой терапии и комбинации цисплатина с паклитакселом с последующей адъювантной химиотерапией продемонстрировал высокие результаты лечения как непосредственные, так и отдаленные.

При этом токсичность лечения оказалась приемлемой. Достижение медианы общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования позволит сделать окончательный вывод о предполагаемых преимуществах данного подхода, который представляется перспективным и оправданным.

Отдаленные результаты многокомпонентного лечения больных местнораспространенным раком шейки матки в зависимости от варианта гистологического строения опухоли

Савец В. В., Важенин А. В., Жаров А. В., Чернова Л. Ф., Шимоткина И. Г., Губайдуллина Т. Н., Кравченко Г. Р.

Место работы: ГБУЗ «ЧОКОД» – Челябинский областной клинический онкологический диспансер
e-mail: lalili2013@mail.ru

В настоящее время рак шейки матки (РШМ) является одним из самых распространенных онкологических заболеваний и составляет около 12–20% злокачественных новообразований женских половых органов. В настоящее время для лечения больных РШМ используют все три метода специального лечения: лучевой, хирургический и химиотерапевтический. Хирургическое вмешательство выполняется, как правило, больным с ранними стадиями заболевания. Быстрое развитие химиотерапии привело к тому, что больным с местнораспространенным РШМ, всё чаще в схему лечения начали включать цитостатические препараты. Применение полихимиотерапии

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

позволило у ряда пациенток добиться выраженной регрессии опухоли. Таким образом, местнораспространённый опухолевый процесс удавалось переводить в условно локализованную форму заболевания и выполнять хирургическое вмешательство. Неблагоприятной тенденцией последних лет является уменьшение удельного веса пациенток с плоскоклеточным РШМ и увеличение железистого и железисто-плоскоклеточного гистологических вариантов опухоли. В современной литературе до сих пор нет единого мнения о роли гистологической структуры опухоли при выборе метода лечения и оценке прогноза заболевания.

Цель исследования. Оптимизировать лечебную тактику и уточнить прогноз заболевания у больных местнораспространённым раком шейки матки IIВ-IIIВ стадиями на основании изучения отдалённых результатов многокомпонентного лечения с учётом морфологического варианта опухоли. **Материалы и методы.** В период с января 2000 г. по декабрь 2010 г. было проведено сравнительное ретроспективное исследование на базе ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер» и ОАО «РЖД» Дорожная клиническая больница. Материалом для исследования послужили результаты наблюдений за 152 пациентками с диагнозом рак шейки матки IIВ-IIIВ стадиями заболевания, получившие многокомпонентное лечение. В соответствии с целью исследования все больные были разделены в зависимости от варианта гистологического строения опухоли на две группы. Первую составили пациентки с плоскоклеточным раком шейки матки (ПлРШМ) 99 (65,1%) человек. Вторую – 53 (34,9%) больные с железисто-плоскоклеточным раком (ЖПлРШМ) и аденокарциномой шейки матки (АКШМ), данные два гистологических типа с учетом наличия железистого компонента были условно объединены в одну группу.

Всем пациенткам поведено 2 цикла НАПХТ с использованием препаратов платины. У больных с полной или частичной резорбцией опухоли (при условии отсутствия инфильтратов в параметральной клетчатке) была выполнена операция Вертгейма –Мейгса (радикальная гистерэктомия III типа). У 18 (11,8%) пациенток с остаточной инфильтрацией параметральной клетчатки после 2 циклов НАПХТ проведена предоперационная ДГТ до 30Гр. в традиционном режиме, посредством которой удалось добиться резорбции опухоли в параметриях и выполнить запланированное хирургическое лечение. Последним этапом многокомпонентного лечения проводилась послеоперационная лучевая терапия.

Результаты исследования. Показатели одногодичной общей выживаемости больных с ПлРШМ и железистыми составили 100 и 100% ($P>0,05$), трехлетней 100 и 92,6% ($P>0,05$), пятилетней 100 и 77,8% ($P<0,05$), десятилетней (93 и 74,1%) ($P>0,05$). При третьей стадии заболевания больных с ПлРШМ и железистыми формами показатели одногодичной выживаемости составили 97,4 и 100% ($P>0,05$), трехлетней 89,5 и 80,8% ($P>0,05$), пятилетней 81,6 и 73,1% ($P<0,05$), десятилетней (65,8 и 57,7%) ($P>0,05$). В сроки до одного года при ПлРШМ метастазы возникли у 2% больных: местный рецидив и паховые лимфатические узлы, от года до 3 лет – у 5,1% – в паренхиматозные органы и лимфатические узлы, от 3 до 5 лет – 9,1% – в паренхиматозные органы и лимфатические узлы, более 5 лет – у 12,1% в лимфатические узлы. При аденогенных формах до года метастазы возникли у 5,7% больных: местные рецидивы и паренхиматозные органы, от года до трех лет у 15,1% – в позвоночник и паренхиматозные органы, от 3

до 5 лет – 18,9% – в паренхиматозные органы и лимфатические узлы, более 5 лет – у 30,2% – в паренхиматозные органы.

Выводы. Среди анализируемых гистологических вариантов МРРШМ наиболее благоприятным течением характеризуется ПлРШМ – показатели общей пятилетней выживаемости в данной группе пациенток были достоверно выше, чем в группах с АКШМ и ЖПлРШМ. При ПлРШМ на сроке после 5 лет наиболее часто возникают метастазы в забрюшинные, паховые лимфатические узлы, реже в легкие и печень, в отличие от аденогенных форм, при которых наиболее часто возникают метастазы в паренхиматозные органы и кости на сроке до 3 лет. Таким образом, можно сделать вывод, что аденогенные формы рака шейки матки должны рассматриваться как наиболее агрессивные опухоли с неблагоприятным прогнозом.

Выявление герминальных мутаций при злокачественных новообразованиях ЖКТ с помощью таргетного секвенирования нового поколения

Абрамов И.С.¹, Любченко Л.Н.², Джумакова Ч.А.², Семейнихина А.В.², Филиппова М.Г.², Наседкина Т.В.¹

Место работы: 1. Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН; 2. Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАН

e-mail: abriv@bk.ru

Существует ряд генетических нарушений, при которых риск развития рака толстой кишки и рака желудка очень высок. Наследственный неполипозный рак (синдром Линча) ассоциирован с мутациями в генах MLH1, PMS1, PMS2, MSH2 и MSH6. Семейный аденоматозный полипоз обусловлен мутациями в гене APC, MYH-ассоциированный полипоз – мутациями в гене MUTYH, а наследственный рак желудка – мутациями в гене CDH1.

Был проведен анализ геномной ДНК 36 пациентов, у которых был обнаружен рак кишки и/или рак желудка и описан отягощенный семейный анамнез. Отбор целевых последовательностей проводили с помощью технологии жидких чипов NimbleGen Sequence Capture.

Библиотека зондов включала 2.1 миллиона олигонуклеотидов длиной 50–105 нуклеотидов, комплементарных кодирующим участкам генов MLH1, PMS1, PMS2, MSH2, TP53, MSH6, CDH1, APC, BMPR1A, CHEK2, EPCAM, MUTYH, PTEN, SMAD4 и STK11. Секвенирование проводили на платформе GS Junior (454/Roche).

В результате было выявлено более 50 полиморфизмов и мутаций, включая патогенные. Редкие варианты были представлены синонимичными заменами (Tyr214= в гене MSH6, Asn751= в гене CDH1), миссенс-мутациями (Gly256Asp в гене MSH2, Val22Met в гене MUTYH, Thr511Ala в гене PMS2, Ile157Thr в гене CHEK2).

Также были обнаружены нонсенс-мутации, приводящие к формированию преждевременного стоп-кодона (p.Gln816Ter, p.Arg406Ter, p.Leu744Ter в гене MSH2). В дальнейшем планируется использовать результаты секвенирования для диагностики злокачественных новообразований ЖКТ.

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

BCD-017 – оригинальный препарат пегилированного Г-КСФ (МНН: эмпэгфилграстим) производства ЗАО «БИОКАД»

Криворотько П. В.¹, Бурдаева О. Н.², Ларионова В. Б.³, Семиглазова Т. Ю.¹, Гаврилова О. Н.⁴, Иванов Р. А.⁴

Место работы: 1. ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург; 2. ГБУЗ Архангельской области «Архангельский клинический онкологический диспансер», г. Архангельск; 3. ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» РАМН, г. Москва

e-mail: gavriloaon@biocad.ru

Цель. Сравнить фармакокинетику, фармакодинамику, эффективность и безопасность, а также терапевтическую эквивалентность однократного введения препарата пегилированного филграстима (BCD-017, ЗАО «БИОКАД», Россия) в дозах 6 или 7,5 мг и ежедневного применения препарата непегилированного филграстима (Лейкостим®), для профилактики нейтропении у больных РМЖ, получающих миелосупрессивную химиотерапию (ХТ) по схеме АТ (доцетаксел 75 мг/м² + доксорубицин 50 мг/м²).

Материалы и методы. Исследование проведено на базе 14 аккредитованных исследовательских центров Минздрава РФ. После подписания информированного согласия в исследование включено 135 больных женского пола в возрасте от 18 лет и старше с подтвержденным диагнозом РМЖ II/III/IV стадии, статусом по ECOG 0–2 балла, компенсированной гемопоетической функцией (гемоглобин ≥ 90 г/л, абсолютное число нейтрофилов $\geq 1,5 \times 10^9$ /л, уровень тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9$ /л) и др. После прохождения скринингового обследования больные централизованно рандомизировались в одну из групп исследования в соотношении 1:1:1 (по 45 пациентов в каждую группу). После интервала не менее 24 часов от момента окончания ХТ пациенты основных групп получали препарат BCD-017 в дозах 6 или 7,5 мг подкожно, однократно; пациенты группы сравнения получали препарат Лейкостим® в дозе 5 мкг/кг, ежедневно до абсолютного числа нейтрофилов (АЧН) $\geq 10 \times 10^9$ /л или максимум до 14 дней.

Критерием оценки эффективности проводимой терапии являлась продолжительность нейтропении 4 степени после первого цикла химиотерапии. Первое исследование АЧН производилось на скрининговом обследовании (до начала ХТ), затем на протяжении каждого цикла ХТ в дни: 1 (перед введением химиопрепаратов), 2 (перед введением исследуемых препаратов), 3–15 и 18. На протяжении исследования в различные сроки оценивался уровень сывороточной концентрации BCD-017. Производился тщательный контроль безопасности по числу различных нежелательных явлений (НЯ), включая случаи нарушения витальных функций и лабораторных отклонений (классификация СТС АЕ, версия 4.03).

Результаты. Средняя продолжительность нейтропении 4 степени тяжести после 1 цикла ХТ была достоверно короче в обеих группах BCD-017 по сравнению с филграстимом: 0,905 дня (6 мг BCD-017), 0,791 дня (7,5 мг BCD-017) и 1,725 дня (филграстим) соответственно. Разность в продолжительности нейтропении 4 степени между филграстимом и BCD-017 7,5 мг составила –0,934 дня (95% ДИ [–1,504 до –0,364] дней, $p < 0,05$).

Полученное отрицательное значение указывает на меньшую продолжительность тяжелой нейтропении в группе BCD-017,

что указывает на потенциально большую эффективность ПЭГ-ГКСФ. При этом различия между группами пегилированного и обычного филграстима не выходят за границы выбранной марджин в +1 день, что подтверждает выдвинутую в исследовании гипотезу. На протяжении последующих 3-х циклов ХТ средняя продолжительность нейтропении 4 степени тяжести была статистически значимо короче в обеих группах BCD-017 по сравнению с филграстимом.

В ходе исследования BCD-017 в изучаемых дозах и препарат сравнения (филграстим) продемонстрировали благоприятный профиль безопасности. На протяжении исследования какие-либо нежелательные явления (НЯ) были зарегистрированы у всех пациентов исследуемых групп. Подавляющее большинство НЯ были обусловлены миелосупрессивной химиотерапией. Различия по частоте тяжелой нейтропении на протяжении исследования 95,24%, 79,07% и 100% соответственно в группах BCD-017 (6 мг и 7,5 мг) и филграстима не достоверны.

Фебрильная нейтропения регистрировалась в группах не более чем у 5% больных и без достоверных различий по частоте между группами. За весь период исследования серьезные нежелательные явления (СНЯ) в группе 6 мг BCD-017 были зарегистрированы у 1 пациентки (2,38%), в группе 7,5 мг BCD-017 – у 1 пациентки (2,33%) и в группе препарата сравнения – у 5 пациенток (11,63%) ($p > 0,05$).

По причине НЯ/СНЯ из исследования выбыло всего 4 пациентки: 1 пациентка – из группы 6 мг BCD-017 (СНЯ – фебрильная нейтропения 3 степени), 3 пациентки – из группы филграстима (СНЯ – фебрильная нейтропения 4 степени, перелом левой плечевой кости, 2 степени, НЯ – рожистое воспаление правой верхней конечности 2 степени) ($p > 0,05$). При сравнении частоты регистрации отдельных НЯ не было выявлено достоверных различий. Случаев летального исхода зарегистрировано не было.

Заключение. В рамках проведенного клинического исследования однократная подкожная инъекция пегилированного филграстима BCD-017 в дозах 6 мг или 7,5 мг для профилактики нейтропении у больных раком молочной железы, получающих миелосупрессивную химиотерапию по схеме АТ (доцетаксел 75 мг/м² + доксорубицин 50 мг/м²), оказалась так же эффективна и безопасна, как и ежедневное введение немодифицированного филграстима в стандартной дозе 5 мкг/кг. На основании совокупного анализа всех параметров эффективности и безопасности установлено, что доза препарата BCD-017 7,5 мг позволяет достичь большего клинического эффекта при идентичном профиле безопасности.

Результаты III фазы международного многоцентрового двойного слепого рандомизированного клинического исследования препарата BCD-022 по сравнению с препаратом Герцептин®, применяемых в сочетании с паклитакселем у больных метастатическим раком молочной железы с гиперэкспрессией HER2

Игнатова Е. О.¹, Фролова М. А.¹, Конн М. В.², Мальцева Т. Е.³, Удовица Д. П.⁴, Котив Б. Н.⁵, Алексеев С. М.⁶, Строяковский Д. Л.⁷, Шевелева Л. П.⁸, Бурдаева О. Н.⁹, Фадеева Н. В.¹⁰, Хоринко А. В.¹¹, Шаповалова Ю. С.¹², Матросова М. П.¹³, Владимиров В. И.¹⁴,

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Давиденко И. С.¹⁵, Лифиренко И. Д.¹⁶, Мухаметшина Г. З.¹⁷, Скопин П. И.¹⁸, Ширинкин В. Б.¹⁹, Моисеенко В. М.²⁰, Шелень К. Г.²¹, Одарченко С. П.²², Русин А. В.²³, Кулик С. А.²⁴, Адамчук Г. А.²⁵, Винник Ю. А.²⁶, Иванов Р. А.²⁷, Шустова М. С.²⁷, Тюлядин С. А.¹

Место работы: 1. ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» МЗ РФ, г. Москва; 2. ГБУЗ «Самарский областной клинический онкологический диспансер», г. Самара; 3. ГБУЗ СК «Ставропольский краевой клинический онкологический диспансер», г. Ставрополь; 4. ГУЗ «Онкологический диспансер №2» ДЗ КК, г. Сочи; 5. ФГБВОУ ВПО «ВМА им. С. М. Кирова» Минобороны России, г. Санкт-Петербург; 6. ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург; 7. ГАУЗ «Московская городская онкологическая больница №62 Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва; 8. ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер №1», г. Волгоград; 9. ГБУЗ АО «Архангельский клинический онкологический диспансер», г. Архангельск; 10. ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер», г. Челябинск; 11. ГБУЗ ПК «Пермский краевой онкологический диспансер», г. Пермь; 12. НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Челябинск ОАО «РЖД», г. Челябинск; 13. ГБУЗ НО «Нижегородский областной онкологический диспансер», г. Нижний Новгород; 14. ГБУЗ СК «Пятигорский онкологический диспансер», г. Пятигорск; 15. ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер №1» МЗ КК, г. Краснодар; 16. ГУЗ «Курский областной онкологический диспансер» КЗ КО, г. Курск; 17. ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан», г. Казань; 18. ГБУЗ РМ «Республиканский онкологический диспансер», г. Саранск; 19. ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», г. Оренбург; 20. ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)», г. Санкт-Петербург; 21. УЗ «Брестский областной клинический онкологический диспансер», г. Брест, Беларусь; 22. Винницкий областной клинический онкологический диспансер, г. Винница, Украина; 23. Закарпатский областной клинический онкологический диспансер, г. Ужгород, Украина; 24. КЛПУ «Городской онкологический диспансер г. Донецк», г. Донецк, Украина; 25. КУ «Криворожский онкологический диспансер», г. Кривой Рог, Украина; 26. КУОЗ «Харьковский областной клинический онкологический центр» г. Харьков, Украина; 27. ЗАО «БИОКАД», Россия

e-mail: shustova@biocad.ru

Цель. В рамках многоцентрового двойного слепого рандомизированного клинического исследования изучить эффективность, фармакокинетику и безопасность препарата BCD-022 (трастузумаб, ЗАО «БИОКАД», Россия) по сравнению с препаратом Герцептин® (трастузумаб, Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд, Швейцария), применяемых в комбинации с паклитакселом у пациенток метастатическим раком молочной железы с гиперэкспрессией HER2 (HER2(+)) мРМЖ.

Материалы и методы. В анализ включено 126 больных HER2(+) мРМЖ в возрасте 18 до 75 лет (65 – в группу исследуемого препарата BCD-022 и 61 – в группу Герцептин®). Лечение проводилось по схеме BCD-022 или Герцептин® 8 мг/кг в/в капельно, паклитаксел 175 мг/м² в/в капельно в 1 день трех-

недельного курса, далее по той же схеме с использованием трастузумаба в дозе 6 мг/кг. Лечение продолжалось в течении 6 курсов или до прогрессирования/явлений непереносимости. Рандомизация в группы производилась в соотношении 1:1. Первичной конечной точкой для оценки эффективности была общая частота ответов (частота полных ответов + частота частичных ответов), для оценки фармакокинетики – площадь под кривой «концентрация-время» (AUC_{0–504}) трастузумаба после однократного применения, для оценки безопасности – частота нежелательных явлений (НЯ). Оценка эффективности производилась по данным КТ с контрастированием с использованием критериев RECIST 1.1. В анализ безопасности входило изучение иммуногенности исследуемых препаратов по частоте образования и титру связывающих и нейтрализующих антител к трастузумабу.

Результаты. Из 126 больных HER2(+) мРМЖ 110 вошло в анализ эффективности: 56 – в группу препарата BCD-022 и 54 – в группу Герцептин®. У 16 пациенток не представлялось возможным провести оценку эффекта ввиду отсутствия необходимых данных. Из них 2/16 больные выбыли до начала лечения, 4/16 пациентки выбыли до первой оценки эффекта по причинам, не связанным с подтвержденным прогрессированием. У 1/16 больной нарушен режим дозирования трастузумаба, в связи с чем сравнение эффективности некорректно. У 1/16 пациентки выявлено несоответствие критериям включения/невыключения, больная исключена из исследования. У 8/16 пациенток характеристики очагов или методика их визуализации не позволяли провести оценку в соответствии с критериями RECIST 1.1.

Эти больные получили терапию в объеме 6 курсов по протоколу с достижением клинической эффективности. Общая частота ответа зарегистрирована у 30/56 (53,6%) (95% ДИ 40,7–65,9%) и 29/54 (53,7%) (95% ДИ 40,6–66,3%) больных в группе BCD-022 и Герцептин®, соответственно (p=0,9). Статистически значимых различий не выявлено при сравнении прочих параметров эффективности: полный ответ зарегистрирован у 3/56 (5,4%) и 2/54 (3,7%) пациенток, частичный ответ – у 27/56 (48,2%) и 27/54 (50,0%), стабилизация – у 14/56 (25,0%) и 14/54 (25,9%), прогрессирование – у 12/56 (21,4%) и 11/54 (20,4%) больных в группах препаратов BCD-022 и Герцептин®, соответственно (p>0,05).

Сравнение по всем основным фармакокинетическим параметрам (AUC_{0–504}, C_{max}, T_{max}, T_{1/2} и trough) показало отсутствие статистически значимых различий между группами. Из 126 больных 124 вошло в анализ безопасности: 63 – в группу BCD-022 и 61 – в группу Герцептин®. Две больные выбыли из исследования до начала лечения. НЯ зарегистрированы у 62/63 (98,4%) и у 60/61 (98,4%) больных в группах препаратов BCD-022 и Герцептин®, соответственно. Статистически значимых различий между группами не было выявлено ни по одному из НЯ. Среди НЯ наиболее часто встречалась гематологическая токсичность, миалгия, артралгия. Большинство зарегистрированных НЯ имели легкую и умеренную степень по СТСАЕ 4.03. Серьезные нежелательные явления (СНЯ) зарегистрированы у 10 пациенток: у 4/63 (6,4%) больных в группе BCD-022 и у 7/61 (11,5%) в группе Герцептин® (у 1 пациентки в группе Герцептин® было зарегистрировано 2 СНЯ) (p = 0,2). В большинстве случаев СНЯ были обусловлены наличием сопутствующей патологии, воздействием химиопрепаратов, либо другими не связанными с исследуемой терапией причинами. СНЯ, связанные с применением трастузумаба, зарегистрированы у 5 больных: у 1/63 (1,6%) в группе BCD-022 и у 4/61

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ТЕРАПИЯ

(6,5%) в группе Герцептин® ($p = 0,2$). Исследование иммуногенности выявило появление связывающих антител к трастузумабу у 3/63 (4,7%) пациенток в группе BCD-022 и у 1/61 (1,6%) в группе Герцептин®, из них нейтрализующие антитела к трастузумабу зарегистрированы у 1 пациентки в группе BCD-022 и у 1 в группе сравнения ($p = 1,00$).

Заключение. BCD-022 (трастузумаб, ЗАО «БИОКАД», Россия) по своему профилю эффективности, безопасности и фармакокинетическим свойствам полностью соответствует оригинальному препарату трастузумаба Герцептин® (Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд, Швейцария), что свидетельствует о терапевтической эквивалентности двух препаратов.

Результаты сравнительного клинического исследования эффективности, безопасности и фармакокинетики препарата BCD-021 (ЗАО «БИОКАД») и препарата Авастин® (Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд, Швейцария) в сочетании с химиотерапией по схеме паклитаксел+карбоплатин у больных распространённым неоперабельным или метастатическим неплоскоклеточным немелкоклеточным раком лёгкого

Орлов С. В.¹, Печеный А. П.², Копп М. В.³, Котив Б. Н.⁴, Алексеев С. М.⁵, Строяковский Д. Л.⁶, Шевелева Л. П.⁷, Бурдаева О. Н.⁸, Фадеева Н. В.⁹, Хоринко А. В.¹⁰, Шаповалова Ю. С.¹¹, Матросова М. П.¹², Коваленко Н. В.¹³, Владимиров В. И.¹⁴, Галушин Р. Х.¹⁵, Лифиренко И. Д.¹⁶, Мухаметшина Г. З.¹⁷, Скопин П. И.¹⁸, Ширинкин В. Б.¹⁹, Шелепень К. Г.²⁰, Одарченко С. П.²¹, Русин А. В.²², Кулик С. А.²³, Куляба Я. Н.²⁴, Адамчук Г. А.²⁵, Винник Ю. А.²⁶, Иванов Р. А.²⁷, Шустова М. С.²⁷

Место работы: 1. ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург; 2. БУЗ ОО «Орловский онкологический диспансер», г. Орёл; 3. ГБУЗ «Самарский областной клинический онкологический диспансер», г. Самара; 4. ФГБВОУ ВПО «ВМА им. С.М. Кирова Минобороны России», г. Санкт-Петербург; 5. ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург; 6. ГАУЗ «Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения города Москвы», г. Москва; 7. ГБУЗ «Волгоградский областной клинический онкологический диспансер № 1», г. Волгоград; 8. ГБУЗ Архангельской области «Архангельский клинический онкологический диспансер», г. Архангельск; 9. ГБУЗ «Челябинский областной клинический онкологический диспансер», г. Челябинск; 10. ГБУЗ ПК «Пермский краевой онкологический диспансер», г. Пермь; 11. НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Челябинск ОАО «РЖД», г. Челябинск; 12. ГБУЗ НО «Нижегородский областной онкологический диспансер, филиал № 1», г. Нижний Новгород; 13. ГБУЗ «Волгоградский областной онкологический диспансер № 3», г. Волгоград; 14. ГБУЗ СК «Пятигорский онкологический диспансер», г. Пятигорск; 15. БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер», г. Омск; 16. ГБУЗ «Курский областной онкологический диспансер», г. Курск; 17. ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан», г. Казань; 18. ГБУЗ РМ «Республиканский онкологический диспансер»,

г. Саранск; 19. ГБУЗ «Оренбургский областной клинический онкологический диспансер», г. Оренбург; 20. УЗ «Брестский областной клинический онкологический диспансер», г. Брест, Беларусь; 21. Винницкий областной клинический онкологический диспансер, г. Винница, Украина; 22. Закарпатский областной клинический онкологический диспансер, г. Ужгород, Украина; 23. КЛПУ «Городской онкологический диспансер г. Донецка», г. Донецк, Украина; 24. КМУ «Городская больница № 2 г. Макеевка Донецкой области», г. Макеевка, Украина; 25. КУ «Криворожский онкологический диспансер», г. Кривой Рог, Украина; 26. КУОЗ «Харьковский областной клинический онкологический центр» г. Харьков, Украина; 27. ЗАО «БИОКАД», Россия
e-mail: shustova@biocad.ru

Цель. Сравнение эффективности, безопасности и фармакокинетики препаратов BCD-021 и Авастин®, применяемых в сочетании с паклитакселом и карбоплатином, в качестве терапии первой линии у больных немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ).

Материалы и методы. Исследование проведено на базе 27 аккредитованных исследовательских центров РФ, Украины и Беларуси. В исследование было включено 138 пациентов в возрасте 18–75 лет с впервые выявленным гистологическим или цитологическим верифицированным диагнозом распространённого неоперабельного или метастатического НМРЛ, за исключением плоскоклеточного варианта, IIIb/IV стадии, статусом по ECOG 0–2 балла, ожидаемой продолжительностью жизни не менее 12 недель с момента включения в исследование и, по меньшей мере 1 измеримым опухолевым очагом диаметром не менее 1 см.

После подписания информированного согласия на участие в исследовании и прохождения скринингового обследования пациенты централизованно рандомизировались в одну из групп исследования в соотношении 1:1 (69 пациентов в каждую группу). Стратификация проводилась в зависимости от общего физического состояния больного (оценка по шкале ECOG 0–1 или 2), наличия метастазов в ЦНС (есть/нет) и стадии заболевания (IIIb/IV).

Включенным в исследование пациентам комбинированная терапия проводилась в день 1 каждого 3-недельного цикла и включала внутривенное введение препаратов BCD-021 (МНН: бевацизумаб, ЗАО «БИОКАД», Россия) или Авастин® (МНН: бевацизумаб, Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд, Швейцария), 15 мг/кг (в зависимости от группы, в которую был рандомизирован больной) + паклитаксел 175 мг/м² + карбоплатин в дозе, необходимой для достижения AUC_{0–6} мг/мл×мин. Лечение продолжалось в течение 6 циклов по 3 недели или до прогрессирования/явлений непереносимости. Ни пациент, ни исследователь не были осведомлены, какой именно препарат (BCD-021 или Авастин®) используется у какого больного, на протяжении всего исследования.

Оценка ответа производилась независимым специалистом, слепленным в отношении проводимого больного лечению, по данным компьютерной томографии (КТ) с использованием критериев RECIST 1.1.

На протяжении исследования динамически оценивалась сывороточная концентрация бевацизумаба в различные сроки после введения препарата, осуществлялся забор крови для исследования иммуногенности, а также производился тщательный контроль безопасности по числу различных нежелательных явлений согласно СТСАЕ, в. 4.03.

ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

Результаты. В анализ эффективности включены данные 110 пациентов, у которых представлялось возможным оценить ответ на терапию по критериям RECIST 1.1: 54 (78,26%) человека в группе препарата BCD-021 и 56 (81,20%) больных в группе препарата Авастин®.

Общая частота ответа (ОЧО) (полные+частичные ответы) в группе препарата BCD-021 составила 42,59% (95% ДИ 30,33–55,83%), а в группе препарата Авастин® – 39,29% (95% ДИ 27,58–52,27%), соответственно. Разница ОЧО в группе исследуемой терапии и в группе препарата сравнения составила 3,30% (95% ДИ –14,96–21,40%) ($p = 0,874$, критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йетса). Нижняя граница рассчитанного 95% ДИ (–14,96%) превысила установленную границу не меньшей эффективности ($\delta = -20\%$), что подтверждает гипотезу о не меньшей эффективности препарата BCD-021 по сравнению с препаратом Авастин®.

Статистически значимых различий не было и при сравнении прочих параметров эффективности: полный ответ наблюдался у 1,85 и 1,79% пациентов, частичный – у 40,74 и 37,50%, стабилизация – у 51,85 и 51,79%, прогрессирование – у 5,56 и 8,93% больных в группах препаратов BCD-021 и Авастин®, соответственно ($p > 0,05$). Сравнение по всем основным фармакокинетическим параметрам (AUC0–504, C_{max}, T_{max}, T1/2 и C_{trough}) также показало отсутствие статистически значимых различий между группами.

В ходе исследования препараты BCD-021 и Авастин® продемонстрировали благоприятные профили безопасности при оценке в полной популяции ($n = 138$). В целом, на протяжении исследования какие-либо нежелательные явления (НЯ) были зарегистрированы у всех пациентов в обеих группах. Среди НЯ, наиболее часто встречались явления гематологической токсичности, несколько реже регистрировались отклонения ряда биохимических показателей. Статистически значимых различий между группами не было выявлено ни по одному из зарегистрированных НЯ.

Среди всех обследованных пациентов отмена лечения (с последующим досрочным выбыванием пациентов) вследствие НЯ, в т.ч. серьезных нежелательных явлений (СНЯ), имела место только у 3-х человек в группе сравнения (4,55%) ($p = 0,116$). Среди данных случаев – по 1 случаю нейросенсорной тугоухости, свища прямой кишки и тромбоза вен нижних конечностей. СНЯ были выявлены в общей сложности у 22 пациентов: у 14 (20,59%) в группе BCD-021 и у 8 (12,12%) больных в группе сравнения, при этом частота СНЯ в группах достоверно не различалась, и в большинстве случаев их развитие было обусловлено наличием сопутствующей патологии, воздействием химиопрепаратов, либо другими не связанными с исследуемой терапией причинами.

Анализ иммуногенности используемых в лечении препаратов моноклональных антител не обнаружил достоверных различий между группами. Было выявлено по одному случаю появления связывающих антител к бевацизумабу в каждой группе: частота составила 1,47% в группе BCD-021 и 1,52% в группе препарата Авастин® ($p = 1,000$).

Заключение. Проведенный анализ эффективности, безопасности и фармакокинетики продемонстрировал отсутствие различий между группами исследуемого препарата и препарата сравнения. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о терапевтической эквивалентности препарата BCD-021 (ЗАО «БИОКАД», Россия) и препарата Авастин® (Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд, Швейцария).

Основные метаболиты феррокинетики (ферритин, прогепсидин, гепсидин-25) и интерлейкин 6 в ранней диагностике анемии хронического заболевания

Блиндарь В. Н., Зубрихина Г. Н., Матвеева И. И.

Место работы: ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина», г. Москва

e-mail: bld51@list.ru

Задача исследования. Ранняя диагностика анемии хронического заболевания (АХЗ).

Материалы и методы. Обследовано 59 сотрудников Центра. Муж. – 19, жен. – 40, возраст от 33 до 67 ($49,0 \pm 1,7$) лет. Клинический анализ проведен на гематологическом анализаторе Sysmex XE-2100-1 (Япония). Содержание ферритина (ФР – нг/мл), прогепсидина (ГПР – нг/мл), гепсидина-25 (ГП25 – нг/мл) и интерлейкина 6 (ИЛ 6 – пг/мл) методом ИФА.

Результаты. 43 человека были практически здоровы. У 7, обследованных пациентов, выявили латентную стадию АХЗ, у 9 – АХЗ. У здоровых лиц все показатели крови были в пределах нормы. Число ретикулоцитов колебалось от 0,5 до 1,8%, в абсолютных цифрах $42,6 \pm 3,5 \times 10^9 / л$ с разбросом показателей $31,5 - 84,2 \times 10^9 / л$. Концентрация ФР в плазме крови составила в среднем по группе $97,9 \pm 15,8$ с колебаниями от 34,6 до 234,1, медиана (МЕ) – 78,1. У муж. значения ФР были $108,0 \pm 11,9$, у жен. – $67,7 \pm 11,5$. Содержание ГПР варьировало от 57,3 до 157,1, в среднем по группе = $99,8 \pm 9,3$, МЕ – 115. Содержание ГП-25 – от 0,3 до 3,2, в среднем по группе составило $2,2 \pm 0,4$, МЕ-1,5.

Показатели ИЛ 6 контрольной группы составляли $7,8 \pm 2,2$, диапазон 1,4–14,1, МЕ-5,7. Латентная стадия АХЗ характеризовалась, на фоне нормальных показателей эритроцитов и гемоглобина, небольшим снижением среднего содержания гемоглобина в эритроцитах ($27,1 \pm 1,8$ пг), высоким содержанием ФР ($529,4 \pm 49,4$), ГПР ($187,1 \pm 11,3$), ГП 25 ($12,1 \pm 5,2$) и ИЛ 6 ($54,1 \pm 7,3$). При АХЗ анемия была первой и второй степени ($94 - 120 г/л$) с небольшим снижением числа эритроцитов. Выявлена высокая концентрация ФР ($489,4 \pm 292,1$) со значительными колебаниями от 65,8 до 1515,4, МЕ=87, ГПР ($283,2 \pm 95,2$), МЕ=250, ГП25 ($7,1 \pm 3,1$), МЕ=1,2, ИЛ 6 ($187,1 \pm 23,1$), МЕ=79,5. Отмечена тесная корреляционная связь между показателями ФР, ГП25 и ИЛ 6 ($r=0,87$).

Заключение. Высокая корреляционная связь между показателями ФР, ГП25 и ИЛ 6 может свидетельствовать о воспалительном патогенезе АХЗ. Показатели гепсидина 25, ферритина, в меньшей степени прогепсидина и интерлейкина 6 могут быть использованы в ранней диагностике анемии хронического заболевания.

Кининовая система крови как медиатор боли у пациентов с метастатическим поражением костей

Франциянц Е. М., Кит О. И., Козлова Л. С., Барашев А. А.

Место работы: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону

e-mail: rnioi@list.ru

Введение. Болевой синдром, обусловленный злокачественной опухолью, не имеет единого патофизиологического механизма. Брадикинин, являясь непосредственным продуктом метаболизма калликреин-кининовой системы (ККС), в ряду химических раздражителей ноцирецепторов – аллогенов – находится на первом месте. Изучение трипсиноподобных протеиназ и ин-

ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

гибиторов в плазме крови больных необходимо для оценки влияния брадикинина на развитие болевого синдрома. Исследование компонентов ККС крови поможет с патогенетических позиций оценить систему медиаторов боли и воспаления.

Цель исследования. Изучить показатели ККС и универсальные ингибиторы в динамике паллиативной помощи пациентам с метастатическим поражением скелета.

Материалы и методы. Настоящее исследование основано на изучении результатов исследования ККС и ингибиторов плазмы крови у 70 пациентов с метастатическими литическими очагами в костях, находившихся на лечении в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения России с 2012 по 2014 гг. Всем пациентам выполняли малоинвазивные оперативные вмешательства, направленные на стабилизацию поражённого костного сегмента. В основной группе стабилизация костных сегментов была дополнена локальным воздействием золедроновой кислоты. Таким образом достигался обезболивающий эффект и улучшалось качество жизни пациентов.

Кинетику ферментов калликреин-кининовой системы (ККС) определяли спектрофотометрически; α -2-макроглобулин (α 2М) и α -1-протеиназный ингибитор (α 1ПИ) – методами ИФА на стандартных тест-наборах. Для сравнения использовали плазму крови 39 практически здоровых доноров.

Результаты. В период «до лечения» не выявлено существенных различий в активности ККС, трипсиновых протеиназ и ингибиторов между показателями плазмы крови больных контрольной и основной групп.

До операции активность трипсиновых протеиназ также была существенно повышена, а общая ингибиторная ёмкость крови, напротив, резко снижена у всего контингента больных ($p < 0,01$ во всех случаях). Факт резкого повышения активности калликреина и одновременного снижения активности кининазы в крови у всех больных прямо указывает на увеличение времени существования брадикинина в сосудистом русле, которое в норме не более 20 сек.

В послеоперационном периоде различия между обследованными группами появились уже в 1-е сутки: активность кининазы у больных контрольной группы оставалась на прежнем уровне, а в крови больных основной группы наблюдался прирост на 75,5%, что указывало на ускорение разрушения свободных кининов и что должно было уменьшить их биологические эффекты, в том числе химическое воздействие на ноцирецепторы.

Активность трипсиновых протеиназ в этот срок была выше, чем до лечения, у всех больных ($p < 0,01$). Это могло быть связано непосредственно с проведением хирургического вмешательства, но в основной группе прирост в 1-е сутки был менее выражен (на 36,7%), по сравнению с контрольной. В 1-е сутки установлены также различия в содержании ингибиторов: количество α 1ПИ в плазме крови больных контрольной группы сохранялось на том же уровне, что и до лечения, а α 2М – достоверно снижалось ($p < 0,01$). В плазме крови больных основной группы α 1ПИ увеличился почти в 3 раза, а α 2М – почти в 2 раза. В послегоспитальный период наблюдения обнаруженная динамика сохранялась, разница между группами по исследованным показателям была максимальной через 1 месяц после выписки ($p < 0,01$). Таким образом, для всех больных контрольной группы было характерным сохранение усиленной выработки брадикинина, постепенное нарастание и стабилизация активности протеолиза в течение всего периода наблюдения.

При этом ингибиторная активность не достигала величин, достаточных для эффективного блокирования протеолиза.

Обращает на себя внимание стабильно высокая активность калликреина у всех больных в течение всего периода наблюдения. Однако раннее увеличение активности основных ингибиторов после местного лечения бисфосфонатом могло оказывать решающее влияние на снижение кининогеназной активности и биологические эффекты активно образующегося калликреина, поскольку α 2М ограничивал только его протеолитическую активность, эстеразная активность ферментов определялась и в связанном с α -2М состоянии, что лежит в основе метода определения.

Остальные трипсиновые протеиназы блокировались α 1ПИ полностью, лишаясь всех видов активности, причём у больных основной группы этот процесс был более эффективным ($p < 0,01$). В итоге изучения динамики протеиназ и ингибиторов плазмы крови в госпитальный и послегоспитальный периоды при лечении больных стандартным методом и локальным применением бисфосфонатов главным являлось выявление двух разных типов реагирования ферментных и ингибиторных систем. Фоновые цифры обеих групп не имели существенных различий, а сразу после комплексного лечения, уже в 1 сутки, различия появились и сохранялись в продолжение всего срока наблюдения.

Для всех больных, пролеченных стандартным методом, было характерно постепенное нарастание и сохранение активности ограниченного протеолиза с ограниченной активностью ингибиторов, а в основной группе регистрировали активизацию кининразрушающей и ингибиторной активности в сроки, совпадающие по времени с уменьшением/исчезновением боли. Резюмируя приведенные результаты комплексного клиничко-лабораторного исследования следует заключить, что в патогенезе болевого синдрома при остеолитических метастазах задействован, прежде всего, брадикинин, а кининразрушающий фермент кининазу, эндогенный ингибитор α -2М, блокирующий протеолитическую активность калликреина, а также α -1ПИ, связывающий трипсиновые протеиназы, следует считать составляющими антиноцицептивной системы организма на молекулярном уровне.

Выводы. 1. При использовании существующих методов стандартной терапии в периферической крови регистрируется прогрессирующая активация процессов ограниченного протеолиза, стабилизируется недостаточность кининразрушающих ферментов и ингибиторных белков, что способствует сохранению или возобновлению болевого синдрома, ухудшающего качество жизни пациентов. 2. Локальное интраоперационное применение золедроновой кислоты снижает активность трипсиновых протеиназ в циркуляции, восстанавливает активность киназ, стимулирует эндогенные ингибиторы α 1ПИ и α 2М в течение 6 месяцев, что коррелирует со снижением и/или исчезновением болевого синдрома в 97,5% случаев ($r_1 = 0,721$; $r_2 = 0,893$).

Частота выявления токсин-продуцирующих штаммов *Clostridium difficile* при ВБИ (внутрибольничной) диарее у онкологических больных

Обухова О.А., Григорьевская З.В., Курмуков И.А., Кашия Ш.П., Дмитриева Н.В.

Место работы: ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина» Минздрава РФ, г. Москва
e-mail: obukhova0404@yandex.ru

ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

Актуальность. Токсин-продуцирующие штаммы *Clostridium difficile* (*C. difficile*) являются причиной развития тяжелых форм антибиотикоассоциированной диареи у больных, получающих противоопухолевое лечение.

Цель исследования. Определить частоту выявления токсин-продуцирующих штаммов *C. difficile* при антибиотикоассоциированной диарее у больных, получающих противоопухолевое лечение.

Материал и методы. Исследование проводилось в период с января 2013 по январь 2015 года. В исследование были включены больные старше 2 лет, у которых имелась антибиотикоассоциированная диарея, определяемая как частый (более 3 раз в сутки) неоформленный стул в течение не менее 3 дней, возникший во время проведения или в течение 4 недель после окончания системной антибиотикотерапии и не имеющих иных очевидных причин. Все больные получали противоопухолевое лечение (хирургическое или лекарственное).

Для исследования кала использовали количественное определение токсинов *C. difficile* A+B с помощью автоматической системы иммунологического анализа miniVidas (BioMerieux, Франция). Анализ выполнялся в лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии (ведущая – профессор Дмитриева Н.В.). Положительными считали пробы с концентрацией токсина не менее 0,37 ng/ml. Всем пациентам с положительным результатом исследования на токсины *C. difficile* назначалось лечение метронидазолом (внутрь или внутривенно) и/или ванкомицином (внутрь) в течение 10 дней. Повторный анализ кала на токсины проводили в случаях сохраняющейся диареи. Рецидивом диареи, связанной с *C. difficile*, считали повторную положительную пробу на токсины в сроки от 10 дней до 90 дней после окончания лечения.

Результаты. Исследовано 504 онкологических пациента, которым было проведено 819 исследований кала на токсин *C. difficile* A+B. Пробы были положительными в 148 случаях (18,1% всех проб) у 109 пациентов (21,6% обследованных пациентов). 18 пациентов (16,5% от всех с положительными пробами) имели рецидив инфекции в течение 90 дней после окончания антибактериальной терапии ванкомицином или метронидазолом.

Заключение. Таким образом, в 21,6% случаев у онкологических больных, получавших противоопухолевую терапию, выявлена *C. difficile* – ассоциированная диарея. В остальных случаях диарея, вероятно, была связана с проводимым противоопухолевым лечением. Так как *C. difficile* является одним из проблемных госпитальных патогенов, который может вызывать тяжелые колиты, приводящие к летальному исходу, диагностика токсинов *C. difficile* A+B является обязательной.

Личностные особенности больных раком предстательной железы

Вагайцева М.В., Чулкова В.А., Семиглазова Т.Ю., Карицкий А.П.

Место работы: ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» МЗ РФ, г. Санкт-Петербург
e-mail: 7707170m@gmail.com

Цель исследования. Сегодня во всем мире наблюдается тенденция роста заболеваемости злокачественными новообразованиями. Достижения в области фундаментальных исследований, направленных на изучение биологии опухолевого роста, позволяют использовать в лечении больных новые высокотехнологические методы, что создает предпосылки для увеличения

срока жизни пациентов. В то же время целью онкологии является не только продление жизни онкологических больных, но и повышение ее качества. В связи с этим актуальным является изучение социально-психологической адаптации онкологических больных к своему заболеванию, которая во многом определяется их отношением к болезни, зависящим, в свою очередь, от особенностей личности больного раком.

Материал и методы. В ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России и в ГКУЗ «Хоспис № 1», Лахта, Санкт-Петербург проводилось исследование, в ходе которого изучалось отношение к болезни у больных раком предстательной железы (РПЖ) после хирургического лечения. Исследовано 107 пациентов в возрасте от 48 до 84 лет (средний возраст – 67 лет), подвергшихся хирургическому лечению и находившихся на этапах лечения, ремиссии и паллиативного лечения.

На отношение к болезни влияет структура личности пациента. Согласно теории Г. Аммона (G. Ammon), отношения как система являются важнейшей интегральной характеристикой личности, иначе говоря, структура личности отражается в процессе отношений. Для формирования представления о структуре личности участников исследования всем пациентам было предложено заполнить Я-структурный тест Г. Аммона. Результаты изучения структуры личности показывают, что у пациентов в выборке отсутствует выраженная дезадаптация в связи с заболеванием и его последствиями.

При этом анализ данных указывает на снижение общей сексуальной активности пациентов и самооценки, а также на то, что ведущей психологической защитой у пациентов является рационализация, свидетельствующая о склонности игнорировать свои переживания в пользу разумных объяснений происходящего.

Сочетание низких показателей самооценки и психической активности, проявляющееся в неумении постоять за себя, может выражаться в повышенной обидчивости пациентов. Чувство недооцененности у пациентов данной группы компенсируется выраженной рационализацией происходящего, что может создавать повышенное психоэмоциональное напряжение пациентов.

Одной из гипотез исследования являлось предположение, что на отношение к болезни у больных раком предстательной железы существенное влияние оказывает уровень психического здоровья. Для проверки данной гипотезы использовалась методика оценки психического здоровья (МОПЗ), созданная на основе теста Аммона. В данной методике под психическим здоровьем понимается достаточная для оптимального функционирования личности адаптация к среде, позволяющая в максимальной степени реализовывать имеющийся психический потенциал.

Результаты. Результаты исследования показали, что треть выборки имеет вне нормативный индекс психического здоровья, который не достигает уровня дезадаптации в связи с заболеванием и его последствиями, но указывает на астенизацию и психоэмоциональное истощение пациентов. Пациенты группы с неблагоприятной картиной психического здоровья характеризуются относительной сохранностью «Я-функций» личности с достаточным уровнем компенсации психической активности. Больные, с неблагоприятной картиной психического здоровья, более фиксированы на восстановлении половой функции как на приоритетно значимом смысле жизни, тогда как пациенты в нормативной группе психического здоровья рассматривают половую функцию как одну из набора жизненных ценностей.

ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

Заключение. Выявленные в ходе исследования особенности восприятия заболевания у мужчин с различной структурой личности и различным уровнем психического здоровья следует учитывать при взаимодействии с данной категорией пациентов в стационаре и при диспансерном наблюдении. Принятие во внимание таких особенностей является фактором выравнивания психоэмоционального фона у пациентов, а также фактором профилактики вторичной психической травматизации и эмоционального выгорания врачей при взаимодействии с больными раком предстательной железы.

К вопросу реабилитации лиц, перенесших терапию по поводу злокачественных новообразований в детском возрасте

Секержинская Е. Л.¹, Синкина Т. В.^{1,2}, Димитриади Ю. Н.¹, Петрова В. Д.^{1,2}

Место работы: 1. КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», г. Барнаул, Российская Федерация; 2. АФ ФГБУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, г. Барнаул, Российская Федерация

e-mail: sekeelena@yandex.ru

Актуальность. Рекомендации по диспансерному наблюдению за лицами, пережившими терапию по поводу злокачественных новообразований (ЗН) в детском возрасте, в нашей стране отсутствуют. Володин Н. Н., Касаткин В. Н., Цейтлин Г. Я. и соавт. (2015) предложили новую концепцию реабилитации лиц, перенесших ЗН в детском возрасте.

По их мнению, реабилитация должна включать в себя комплекс мероприятий медицинского и психологического характера, направленный на полное или частичное восстановление нарушенных либо утраченных функций пораженного органа (системы) организма, поддержание функций организма в процессе завершения острого периода болезни, требующего долечивания, и санаторного этапа – для предупреждения возможной инвалидности. В конечном счете, реабилитационные мероприятия для детей, перенесших ЗН, направлены на социальную интеграцию ребенка в общество.

Однако, говорить о качественной реабилитации этих пациентов, можно только при условии пожизненного диспансерного наблюдения за ними, так как, одним из наиболее серьезных отдаленных последствий противоопухолевой терапии является возникновение вторых и последующих злокачественных опухолей. Сельчук В. Ю. и соавт. (1999) отмечают возможную роль ятрогенных факторов, связанных с лечением первого ЗН, как этиологического момента в развитии второго и последующего. Риск развития повторных опухолей у лиц, перенесших терапию по поводу ЗН в детском возрасте, превышает общепопуляционный в 3–6 раз (С. Н. Gueniot, 1993; J. Blattetal., 1992; Володин Н. Н. и соавт., 2015). Поэтому, мы считаем необходимым добавить позицию включения пациентов, перенесших терапию по поводу онкологического заболевания в раннем возрасте, в группу высокого онкологического риска развития вторых новообразований (Петрова В. Д., Синкина Т. В. и соавт., 2013).

Цель исследования. Оценить целесообразность включения пациентов, перенесших онкологическое заболевание в детском возрасте, в группы высокого онкологического риска развития вторых и последующих злокачественных новообразований.

Материалы и методы. В популяционном раковом регистре Алтайского края по итогам 2014 г. состояло 11166 человек

с первично-множественными злокачественными новообразованиями, у 2097 (18,7%) пациентов первая опухоль была выявлена в возрасте до 18 лет.

Результаты. В процессе диспансерного наблюдения пациентов, перенесших терапию по поводу ЗН в детском возрасте, была выявлена вторая злокачественная опухоль у 42 человек (20 мужчин и 22 женщины), что составило 2,0%. В 4,7% случаев опухоли носили синхронный характер. В структуре первого ЗН преобладали лимфома Ходжкина (17,1%), лимфолейкоз (14,6%), щитовидная железа (14,6%); в структуре второго ЗН – щитовидная железа (14,3%), опухоли соединительной ткани (12,2%), кожа и головной мозг (по 9,8%). У 1 пациента выявлено третье ЗН – рак желудка.

В 7,1% случаев вторая опухоль была выявлена в сроки наблюдения от 1 года до 3 лет; в 11,9% случаев – в сроки от 3 до 5 лет; в 19% случаев – в срок от 5 до 10 лет; в 14,2% случаев – в срок от 10 до 15 лет; в 23,8% случаев – в срок наблюдения больше 30 лет.

У 26 (62,0%) пациентов имелся отягощенный онкологический анамнез (3 и более кровных родственника имели онкологическую патологию).

Заключение. Таким образом, включение в группы высокого онкологического риска лиц, перенесших терапию по поводу злокачественных новообразований в детском возрасте, является целесообразным. Так как особенностью этих пациентов является наличие высокого риска возникновения вторых и последующих злокачественных опухолей и высокий удельный вес «семейного анамнеза», в связи с чем, данные пациенты должны проходить углубленную и качественную реабилитацию.

Опыт применения компьютерной программы специализированного гериатрического осмотра в онкологической практике

Думачев Д. В.¹, Горелик С. Г.², Процаев К. И.², Кузина Л. И.³, Ткаченко Е. В.⁴, Полторацкий А. Н.⁴

Место работы: 1. ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород; 2. АНО «Научно-исследовательский медицинский центр «Геронтология», г. Москва; 3. ОГБУЗ «Белгородский онкологический диспансер», г. Белгород; 4. НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова, г. Санкт-Петербург

e-mail: Orionim@yandex.ru

Лица пожилого и старческого возраста составляют наибольшую долю среди пациентов с выявленным онкологическим заболеванием [1]. Данная группа пациентов имеет ряд особенностей, осложняющих и без того непростую задачу по лечению онкобольных. Во-первых, данная группа пациентов имеет высокий уровень коморбидной патологии, зачастую ограничивающей спектр возможностей комплексного лечения онкологического заболевания и осложняющей реабилитацию после высокотравматичных онкологических операций, а также увеличивающая выраженность побочных эффектов химио- и лучевой терапии [2, 3].

Не только лечение, но и период реконвалесценции у данной категории пациентов имеет свои особенности течения и ведения с целью предупреждения развития осложнений и уменьшения летальности. Ключевым аспектом, позволяющим прогнозировать вероятность и степень выраженности

ПОДДЕРЖИВАЮЩАЯ ТЕРАПИЯ

осложнений терапии онкологических заболеваний у пациентов пожилого и старческого возраста является выявление и определение степени выраженности такого феномена, как старческая астения (англ. "Frailty"). Синдром старческой астении является крайним проявлением возрастных изменений, которые приводят к накоплению инволютивных изменений и постепенному падению параметров функционирования организма.

Для определения степени старческой астении проводится специализированный гериатрический осмотр (СГО) пациента, направленный на выявление физических, функциональных и психосоциальных особенностей людей пожилого и старческого возраста [4]. Специализированный гериатрический осмотр (comprehensive geriatric assessment) – совокупность диагностических мероприятий, которые ориентированы как на осуществление традиционной нозологической диагностики и выявление имеющихся у пациента заболеваний, так и на изучение социального статуса и рисков снижения качества жизни и социальной деятельности с точки зрения соматического состояния, которые имеются у человека пожилого и, особенно, старческого возраста.

Методика основана на применении опросников и шкал, основными из которых являются: «Оценка риска развития синдрома мальнотриции», «Оценка двигательной активности у пожилых», «Мини-исследование умственного состояния», «Оценка депрессии» (шкала Бека), «Оценка независимости в повседневной жизни» и ряд других. Основной целью СГО является выявление гериатрических синдромов, которые определяют развитие синдрома старческой астении.

Цель. Учитывая неразрывную связь наличия гериатрических синдромов с ухудшением, как отдаленного прогноза, так и самого процесса терапии, целью исследований является оптимизация выявления старческой астении при первичном приеме онкопациента пожилого или старческого возраста.

Материалы и методы. Используя оригинальную методику, разработанную геронтологами Горелик С.Г., Ильницкий А.Н., Прощаевым К.И. и др. (свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2015613438) «Оптимизация ухода в гериатрии в зависимости от степени старческой астении на основании проведения специализированного гериатрического осмотра» [5], был проведен СГО пациентов пожилой и старческой возрастных групп, имеющих злокачественные опухоли ЖКТ различной локализации, находящихся на стационарном лечении в отделении химиотерапии ОГБУЗ «Белгородский онкологический диспансер».

Результаты. В результате проведенного осмотра было выявлено, что большинство обследованных с применением компьютеризированной методики онкологических пациентов пожилого и старческого возраста, получающих лечение по поводу основного заболевания, имеют старческую астению V–VI этапа согласно классификации этапов развития синдрома старческой астении, разработанной рабочей группой, проводившей канадское исследование здоровья и старения (CSHA, 2009).

Основными выявленными проявлениями синдрома старческой астении являлись умеренная или тяжелая степень мальнотриции, нарушения когнитивной, эмоционально-волевой сферы, а также высокая степень зависимости от постороннего ухода в повседневной жизни.

Заключение. Оценив полученные данные, мы пришли к выводу о целесообразности внедрения в качестве скринингового теста на старческую астению компьютеризированной методики проведения специализированного гериатрического осмотра. Учитывая тот факт, что для пациентов онкологического профиля лечение основного заболевания напрямую сопряжено с повышением качества жизни и увеличением ее продолжительности, раннее выявление синдрома старческой астении позволяет проводить профилактику ее дальнейшего развития, а также корректировать проявления данного синдромокомплекса, что положительно скажется как на эффективности проводимого лечения, так и на качестве жизни пациента.

Список литературы.

1. Yancik R., Ries L. A., Cancer in older persons: an international issue in an aging world // Semin. Oncol. – 2004. – Apr. 31(2). – P. 128–36.
2. Balducci L., Corcoran M. B., Antineoplastic chemotherapy of the older cancer patient // Hematol. Oncol. Clin. North Am. – 2000. – V. 14. – P. – 193–212.
3. Думачев Д. В., Прощаев К. И., Щербань Э. А., Ткаченко Е. В., Современные проблемы отбора онкологических пациентов пожилого и старческого возраста на химиотерапию // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3; URL: www.science-education.ru/123-19805
4. Ильницкий А. Н., Прощаев К. И., Специализированный гериатрический осмотр // Геронтологический журнал им. В. Ф. Купревича. – 2012. – № 4–5. – С. 66–84.
5. Горелик С. Г., Ильницкий А. Н., Прощаев К. И., Богат С. В. Оптимизация ухода в гериатрии в зависимости от степени старческой астении на основании проведения специализированного гериатрического осмотра: свидетельство о государственной регистрации программ для ЭВМ № 2015613438 от 30.10.2013 г.